

灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* の生活史からみた 分生孢子および菌核形成の環境生理学的研究

著者	鈴木 義久
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	206
URL	http://hdl.handle.net/10097/36708

博 士 論 文

灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* の生活史
からみた分生胞子および菌核形成の
環境生理学的研究

農学専攻 植物環境生理学

鈴木 義久

目 次

I	緒論	1
II	既往の研究	6
III	実験材料および方法	16
IV	分生胞子形成の発育過程における 光の役割	21
1	胞子形成過程における青色光と 近紫外光の光可逆的反応系	21
2	分生胞子形成の発育過程におけ る青色光と近紫外光の光可逆的 反応系の所在	38
3	小括	50
V	菌核の形成過程における光の役割	52
1	Terminal type の菌核形成過程に おける光の役割	54
(i)	Terminal type の菌核原基形成に おける誘導条件	54
(ii)	Terminal type の菌核形成過程に	

	おける光の影響とその有効	
	波長域	65
(ii)	Terminal type の菌核形成過程に	
	およぼす青色光の作用	67
(iv)	近紫外光による青色光阻害の	
	回復	74
(v)	菌核の発育段階における青色光	
	と近紫外光による光可逆的反応	
	系の所在	79
エ	Lateral type の菌核形成過程にお	
	ける温度および光の役割	89
(i)	Lateral type の菌核原基形成誘導	
	における温度条件について	90
(ii)	Lateral type の菌核原基形成後の	
	発育過程における温度条件に	
	ついて	101
(iii)	Lateral type の菌核形成過程にお	
	ける光の影響とその有効波長域	103
(iv)	Lateral type の菌核形成過程に	
	およぼす青色光の作用	107

I 緒 論

すべての生物体はいくつかの異質な部分から成り立っているが、生物体の各部分におけるこのような異質な部分の発現、すなわち発育分化はその生物体を取りまくさまざまな環境因子によって著るしく影響をうける。なかんずく、光は高等植物における形態形成の進行に重要な役割を果たし、植物の生活環を制御している。

高等植物における花芽の分化、種子の発芽、休眠の誘導および解除などには、光合成にみられる光エネルギーを化学エネルギーに変換、蓄積する高エネルギー反応系とは全く異なった低エネルギー反応系、すなわちファイトクローム系が関与していることが明らかにされている。

一方、最近、約10年間にわたる我々の研究室を中心に、菌類、とくに不完全菌類の *Helminthosporium oryzae* や *Alternaria tomato* の分

生孢子形成過程において、高等植物の形態形成に關与するファイトクローム系に類似の光反応機構、すなわち低エネルギーの青色光と近紫外光による光可逆的反応系、すなわちマイコクローム系が關与し、菌類の生活環を制御していることが明らかにされた。

さて、そう菌類、子のう菌類をはじめとする多くの菌類は、バクテリア、ウイルスとは異なっていて比較的高度に分化しており、繁殖器官として、菌糸および分生胞子のほか、造卵器、造精器、子のう殻、子のう盤など種々の生殖器官を形成する。灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* の場合においては、図1に示されているように、栄養菌糸から分生胞子を形成するが、もう一つの無性生殖器官として菌核をも形成する。菌核は個々の菌糸体の絡み合いによってできた一種の柔組織構造をもった器官である。

また、本菌は野菜類および花卉類を侵かす

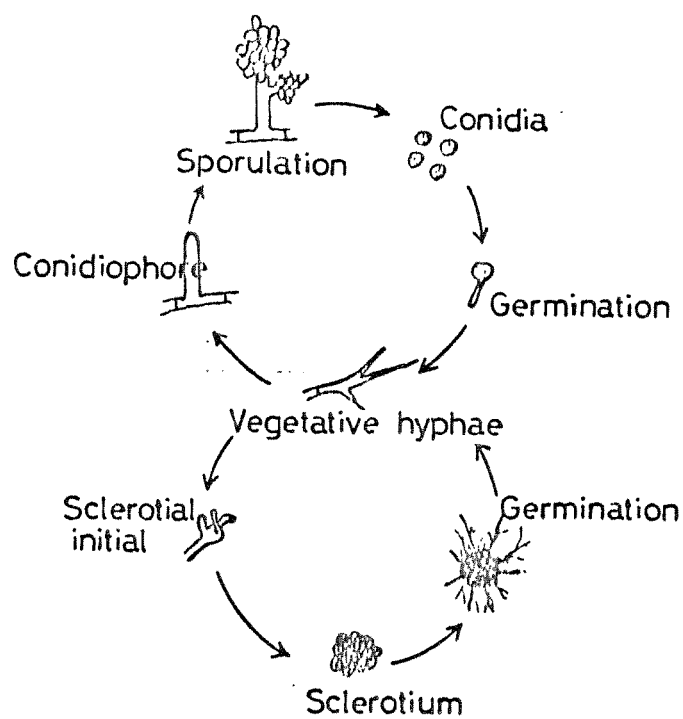


Fig 1. Life cycle of Botrytis cinerea

多犯性の植物病原菌で、主として、分生胞子の分散によって病原体を拡散し、菌核の状態を経て越冬する。分生胞子および菌核の形成機構は種々多様の環境因子によって影響され、生活様式も複雑で、本菌による病害の防除は極めて困難なのが現状である。しかしながら、そのような病害を防除する最も根本的、かつ経済的な方法の一つとして、病原菌の生理的分化および病原菌の生活史を明らかにすることによって、自然界における病原菌の生活環を解明し、その伝染鎖を効果的に断ち切るなど、人工的に病害を防除することの可能性を追求することは、植物病理学上、さらに菌類における形態形成の研究にも大いに貢献するものと考えられる。

本研究は、*Botrytis cinerea* の分生胞子および菌核の形態形成における環境要因とくに光の作用機構と両無性生殖器官形成における環境要因の相互関連性を明らかにすること

重点を置き、一方、植物病理学上の病原性の
発現機構を解明する一助に資することを目的
として行なわれたものである。

Ⅱ 既往の研究

菌類におよぼす光の効果について、前世紀後半から、多くの研究者によって報告されてきた。古くは、1877年 Breffeldが *Coprinus ephemerus* の子実体形成の誘導に2〜3時間の光照射が必要であること、1916年、Coons⁽¹⁷⁾ は *Plenodomus fuscomaculans* の子実体形成には光が必要であることを明らかにし、Robinson⁽⁶¹⁾ は、*Pyronema confluens* は短時間の光照射によって *antheridia*, *oogonia* を形成することを報告している。その後、種々の菌類における無性生殖器官と有性生殖器官の形態形成に光が必要であることが報告され、菌の種類によって異なるが、青色光が有効であるとする報告が多い。^(11, 13, 19, 31, 33, 50, 51, 52, 58, 72)

1936年 Stoll⁽⁶⁵⁾ は子実体の菌類 (*Ascomycetes*) の *Ascophanus carneus* の子実体の盤形成には430〜540 nmの波長域光が有効であるとし、それ以上の長波長域光では効果がないことを報告している。

しかし、Christenberry⁽⁶⁴⁾は *Choanephora cucurbitarum* の胞子形成誘導には $571 \sim 608 \text{ nm}$ の赤黄色光が有効であるとしている。

一方、1928年、*Ascomycetes, Funji Imperfecti* の有性、無性生殖器官形成には紫外線の刺激的效果が重要であることが Stevens⁽⁶³⁾ によって最初に指摘された。さらに Marsh⁽⁵⁰⁾ は数種の菌類について検討し、子のう菌類、不完全菌類の胞子形成には青色光および近紫外光が有効であり、菌種によって、(1)紫外線のみ反応する菌種、(2)青色光と近紫外光の両波長域光にのみ反応する菌の2つに分類できることを指摘している。また、1928年、Stevens^(63, 64) によって子のう菌類、不完全菌類の繁殖器官形成には紫外線の刺激的效果が重要であることが指摘されて以来、多くの不完全菌類において、胞子形成の誘導には近紫外光が重要であることの例が多く報告された。初期は、*Macrosporium tomato*, *Fusarium cepae*⁽⁶⁰⁾, *Fusarium spp.*⁽²⁾ および *Alternaria solani*⁽⁵²⁾ に

ついて、胞子形成に対する有効波長域について研究され、その有効波長域は 320 nm 以下に限られることが示された。

しかし、回折格子による分光装置の開発などによる技術の進歩によって、1960年を境として菌類の形態形成に対する光の研究も半定量的なものから定量的な方向へと発展した。最近、10年間にいくつかの不完全菌類でかなり精密な単色光照射による光の研究がなされ、*Ascochyta pisi*⁽³⁷⁾, *Helminthosporium dematioides*⁽³⁷⁾, *Stemphylium botryosum*⁽³⁸⁾ および *Alternaria chrysanthemi*⁽³⁹⁾ では、胞子形成は $230\sim 360\text{ nm}$ の紫外線波長域光によって誘導され、それ以上の長波長光では誘導されないことが示された。また、*Ascochyta pisi*⁽⁴⁰⁾, *Alternaria dauci*, *Stemphylium botryosum*⁽⁴³⁾ および *S. solani*⁽²⁶⁾ の胞子形成に対する作用スペクトルによって 370 nm 以下の波長域光が重要であることが示された。なかんずく、Leach^(37, 43) は、*Alternaria dauci* の分生胞子形成や *Pleospora herbarum* の分生胞子および被子器

の形成に対する作用スペクトルには、230、270、290nmのおのののピークがみられ、また310nmにも小さなピークがみられることと、280nm以下の紫外線域に属する作用スペクトルは核酸の吸収スペクトルに重なることから、傷害的な影響によるものとは異なる孢子形成誘導のための光受容体は、290~310nmに吸収をもつ可能性があることを指摘した。

さらに、これらの知見をもとに、Leach⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾らは、*Alternaria chrysanthemi*, *Ascochyta pisi*などの菌糸体に近紫外光を照射し、菌糸体内の紫外線吸収物質の変動を検討した結果、310nmに最大吸収をもつ色素体 P_{310} が形成されること、またこの P_{310} は冷アルコールによって抽出され、透析膜を通過し、カチオン交換樹脂に吸収される水溶性の310~340nmに吸収をもつ物質であることが明らかになった。しかし、この P_{310} は暗黒下培養された孢子形成の誘導をうけない菌糸体には存在しないし、また菌糸体内の P_{310} の形成は照射6時間後に始めて

分光光学的に検出されることから、この P_{310} は光誘導における光受容体とは考えられない。その後、研究によって、孢子形成の前段階である分生子柄には必ず P_{310} が存在することわかり、 P_{310} は近紫外光の受容体ではなく、近紫外光照射による光誘導物質の一つであると考えられるようになった。

一方、Leach らによるこのような孢子形成に対する近紫外光による光誘導機構についての研究に対して、Aragaki⁽¹⁾ および Luckens⁽⁴⁹⁾ は光誘導後の孢子形成過程の暗期反応における光阻害系の作用スペクトルの研究によって、菌類の孢子形成機構を明らかにしようとした。1962 年、Aragaki⁽¹⁾ は *Alternaria tomato* を用いて、3 日間の白色光照射による孢子形成誘導後の暗期反応における光阻害の作用スペクトルを検討した。その結果、孢子形成阻害の有効波長は 375~480 nm にあることを明らかにした。

また、1963 年、Luckens⁽⁴⁹⁾ は *A. solani* を用いて、

接種後、暗期下で3日間前培養した後、24時間の白色光を照射することによって胞子形成を誘導し、その後、約12時間の暗期下におくことによって多数の分生胞子が形成されることを観察し、分生胞子形成には光誘導後約12時間の暗期が必要であることを示した。そこで24時間の白色光照射後それに続く12時間目に短時間の光中断を行なうことによって胞子形成阻害の作用スペクトルを測定した。その結果、450 nm、375~425 nmにピークがあり、もう一つ小さな600 nm以上の波長域にピークがあることを明らかにし、さらにこの光阻害の作用スペクトルはフラビンモノスクレオチド(FMN)やβ-カロチンの吸収スペクトルによく一致することを示した。そこで、これらの事実に基づいて、FMNやβ-カロチンの青色光阻害に対する影響を検討した結果、この反応系に関与する光受容体はフラビン酵素である可能性を推論した。

一方、このような有効波長域の面から菌類

の胞子形成機構を解明しようとするグループ
に対して、Barnett⁽³⁾らは1938年のChrystenberry
の*Choanephora cucurbitarum*の胞子形成につい
ての研究を基にして研究を行ない、胞子形成
に対する光の相互作用機構の概念を提出した。
すなわち、*C. cucurbitarum*の胞子形成におよぼ
す光の影響について、2日間光照射後暗期下
におくと胞子形成はみられるが逆に2日間暗
期下にあき、その後光照射した場合は胞子形
成はみられないこと、さらに白色光連続照射
下および連続暗期下では胞子形成はみられな
いことを明らかにした。これらの事実から、
胞子形成には2つの反応系が関与し、反応系
1の進行には光が必要であるが、光は次の暗
期において進行する反応系2を明らかに阻害
する。胞子形成には必ず光反応系とそれに
続く暗反応系を必要とし、この2つの反応過
程は光反応系→暗反応系の順序性をもってい
る。このような菌類の胞子形成における光反
応系につづく暗反応系の重要性については、

その後、1968年、本田らの⁽²⁸⁾ *Helminthosporium oryzae* および1969年、熊谷らの⁽³⁴⁾ *Alternaria tomato* の分生胞子形成においても確認された。また、彼らはBarnettらの明暗要求性の理論をさらに一歩進め、それぞれの菌種を用いて、胞子形成過程における近紫外光による光誘導相と光誘導後の一定暗期における青色光による光阻害相の存在を指摘するとともに、その青色光阻害相において、近紫外光は青色光による阻害作用を打ち消すと同時に、この青色光と近紫外光の相反する向きの作用は相互に可逆的に何回でも繰り返えることができ、胞子形成における分化の方向性は最後に与えられた波長光に依存していることを明らかにした。さらに、この光可逆的反応系も菌類の名に因んで、「マイコクローム」と命名し、さらにこの系を細胞外に抽出、精製し、分光光学的に測定することとを可能にした。^(35, 36) その後、*Botrytis cinerea* の分生胞子形成においても、マイコクローム系が関与することとが明らかにされ

(66,67)
に。

また、一方、菌類の菌核形成に対する環境
 因子の影響については多くの研究があるが、
 主に栄養条件、あるいはそれに関連する因子
 の影響を中心に行なわれ、光の影響に関する
 データは極めて少ない。古くは、1927年
 Paul⁽⁵⁷⁾が *Botrytis cinerea* の菌核形成に光が影響
 することの可能性を示したのみである。その
 後、1950年代にいたり、Becker⁽⁸⁾の *Verticillium*
albo-atrum, Page⁽⁵⁷⁾の *Botrytis squamosa* および Carlile⁽¹⁰⁾
 の *Fusarium oxysporum* など、菌核形成に光が関
 与することが報告された。McClellan⁽⁵³⁾らは
Verticillium albo-atrum の菌核形成は赤色光、近
 赤外光および暗黒下でみられるが、青色光あ
 るいは白色光を照射することによって阻害さ
 れることを報告している。また、Kaiser^(32,33)は同
 じ菌種を用い、種々の波長域光を10日間連続
 照射したところ、可視域中、青色光のみが菌
 核形成を阻害することを見い出した。

菌核形成に対する光の影響は阻害的に作用

するという報告が多いが、一方、これに対して、1977年 Humphertson-Jones⁽³⁰⁾ らは *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium delphini* および *S. rolfsii* を白色光、特に青色光 (420-460 nm, ピーク 435 nm) と近紫外光の連続照射下で培養した場合、菌核形成は促進されることを報告し、菌核形成に対しても、光の誘導的作用の可能性を指摘した。

このように、菌類の菌核形成における光の役割については、ようやく研究が開始されたという域を出ず、その反応機構については、全く不明であるといっても過言ではない。

Ⅲ. 実験材料および方法

1. 供試菌株

灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. を実験に供した。本菌株は、1974年6月、東北大学理学部付属植物園の罹病したバラの萼から分離したものである。

2. 培養方法

培地は常法による馬鈴薯煎汁を2倍に希釈し、グルコース5g、寒天20gを加えて1ℓとした馬鈴薯寒天培地(PDA)を使用した。pHは約5.2に調整した。接種には、20℃、暗黒下で4日間培養した菌叢の周辺部から、円筒状の白金耳で打ち抜いた菌叢円板(直径3mm)を用い、直径9cmシャーレに20mlのPDAを流し込んだ寒天平板の中心部に接種した。培養は26±1℃、3日間、暗所で行なったものをその後種々の実験処理に用いた。

3. 光照射および光エネルギーの測定

光源は主として, black light lamp (BLB, 東芝 FL-BLB), および各種有色蛍光管を用いた。実験に用いた光源の放射波長特性は表1に示した。培地面における入射光のエネルギーは, 熱電堆 (Kipp & Zonen, Model E-1) と電圧計 (Towa-denpa, Model PM-16A) を用いて測定した。

4. 分生孢子形成と菌核形成の決定方法

分生孢子形成は, 光学顕微鏡 ($\times 100$) を用い, 1 菌叢につき, 5ヶ所の測定部位 (各々, $1 \times 1 \text{ mm}$) を任意に選択し, 1 区3連をもつて, 分生孢子的着生した分生子柄数を直接数えることによって測定した。

菌核形成については, lateral type の菌核形成は, 菌叢の周辺部にリング状に形成しうる条件を用い, 1 リングあたりの菌核数を測定

表1. Fluorescent tubes and filters used in the experiments.

Light quality	Light source	Wavelength (nm)	Filter (Transmission range, nm)
BLB	FL-20 BLB	310-410 (peak 360)	—
NUV	FL-20 BLB (Toshiba)	310-410 (peak 360)	Toshiba UV-D A (300-400)
White	FL-20SD-SDL (Toshiba)	—	—
Blue	FL-20B-F (Mitsubishi)	400-590 (peak 460)	Mitsubishi Jushi (Blue) 390-550 700-
Green	FL-40G-F (Mitsubishi)	480-610 (peak 530)	Mitsubishi Jushi (Green) 500-600 700-
Yellow	FL-40Y-F (Mitsubishi)	490-700 (peak 580)	Mitsubishi Jushi (orange) 520-
Red	FL-20R-F Mitsubishi)	600-730 (peak 660)	Mitsubishi Jushi (Red) 600-
Far-red	infrared tungsten bulb (Toshiba I25W)	675-	Water layer(14 cm)

BLB, black light; NUV, near ultraviolet.

することによって評価した。terminal type の菌核形成は、光学顕微鏡を用いて、1菌叢につき任意に3ヶ所の測定部位(各々 150 mm^2)を設け、菌核数を数えることによって測定した。

5. 分生孢子形成と菌核形成の各発育過程における形態的变化の観察方法

分生孢子および菌核の両発育過程の形態的变化については次のようにして観察した。

分生孢子形成においては、BLB照射による分生子柄形成誘導後の暗期開始とともに顕微鏡のスライドホルダーに培養したシャーレを固定し、暗期開始後3時間目に任意に1本の分生子柄を選び、以後13時間まで20分毎に標識した分生子柄の発育過程を経時的に調査した。また、種々の光処理は、スライドホルダーにシャーレを固定したままで行なった。菌核形成における原基の発育過程についての調

査は、分生胞子形成と同じような方法で行ない、lateral type については、4 時間毎に 144 時間まで、terminal type については、2 時間毎に 40 時間まで行なった。この場合、赤色光は、分生子柄および菌核の両発育過程に何らの影響を与えないので、観察時の安全光として、カットフィルター (R-60, Hoya Glass Work) を顕微鏡のコンデンサー下に挿入し、赤色光を使用した。

IV 分生孢子形成の発育過程における光の役割

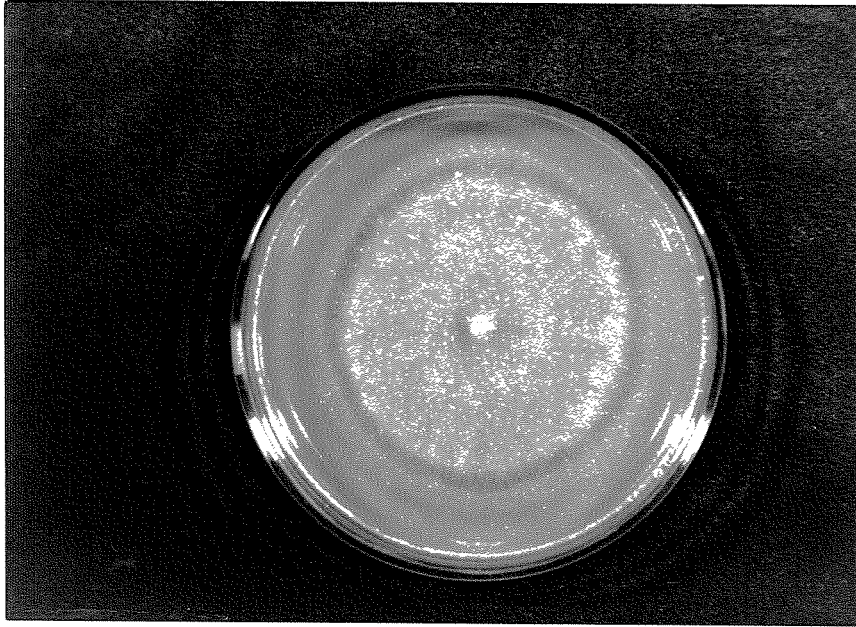
1 孢子形成過程における青色光と近紫外光の光可逆的反応系

不完全菌 *Helminthosporium oryzae*, ^(28,29,29) *Alternaria* ⁽³⁴⁾ *tomato* などの孢子形成過程には、青色光と近紫外光による光可逆的反応系、すなわちマイコクロームが関与し、分化の方向性を決定する上で重要な役割を果たすことが明らかにされている。その光反応系は分生孢子形成の前段階である分生子柄の成熟過程において作用するものと推定されているが、その詳細については全く不明である。

本研究に供試された *Botrytis cinerea* の分生子柄の発育過程は、形態的に6つの段階に明瞭に区別される。したがって青色光と近紫外光による光可逆的反応系が、分生子柄のどの発育段階において機能するのかを顕微鏡下

で詳細に検討した。

本菌は連続暗黒下では分生胞子はもちろん、分生子柄も形成せず、栄養菌糸のみの生長を行なう。しかし、3日間暗黒下で培養した菌叢に12時間BLBを光照射し、その後引き続き12時間暗黒下で培養すると図2に示されるように多数の分生胞子が光照射時の菌叢の周辺部に輪状に形成される。さらに、図3に示されるように、BLB連続照射下では分生子柄は多数形成されるが、分生胞子の形成はみとめられない。表2に示されるように、BLB、NUV、白色光による光照射が分生子柄形成誘導には有効であり、青色光、緑色光、黄色光、赤色光、近赤外光は全く効果を示さなかった。したがって、本菌の分生子柄形成誘導に有効な波長域は近紫外域に限られることが明らかになった。さらに、12時間BLB照射後、暗黒の代わりに青色光照射下で培養すると、一旦形成された分生子柄は尖針状の細長い栄養菌



2. Conidiophore zonation induced by near-UV irradiation.
Conidiophores were formed in a narrow region of the colony
that was growing just before irradiation.
















PRECULTURE FOR 3 DAYS	TIME (HOURS)			CONIDIO- PHORE	CONIDIA
	0	12	24		
				—	—
				+	—
				+	—
				+	+
				—	—

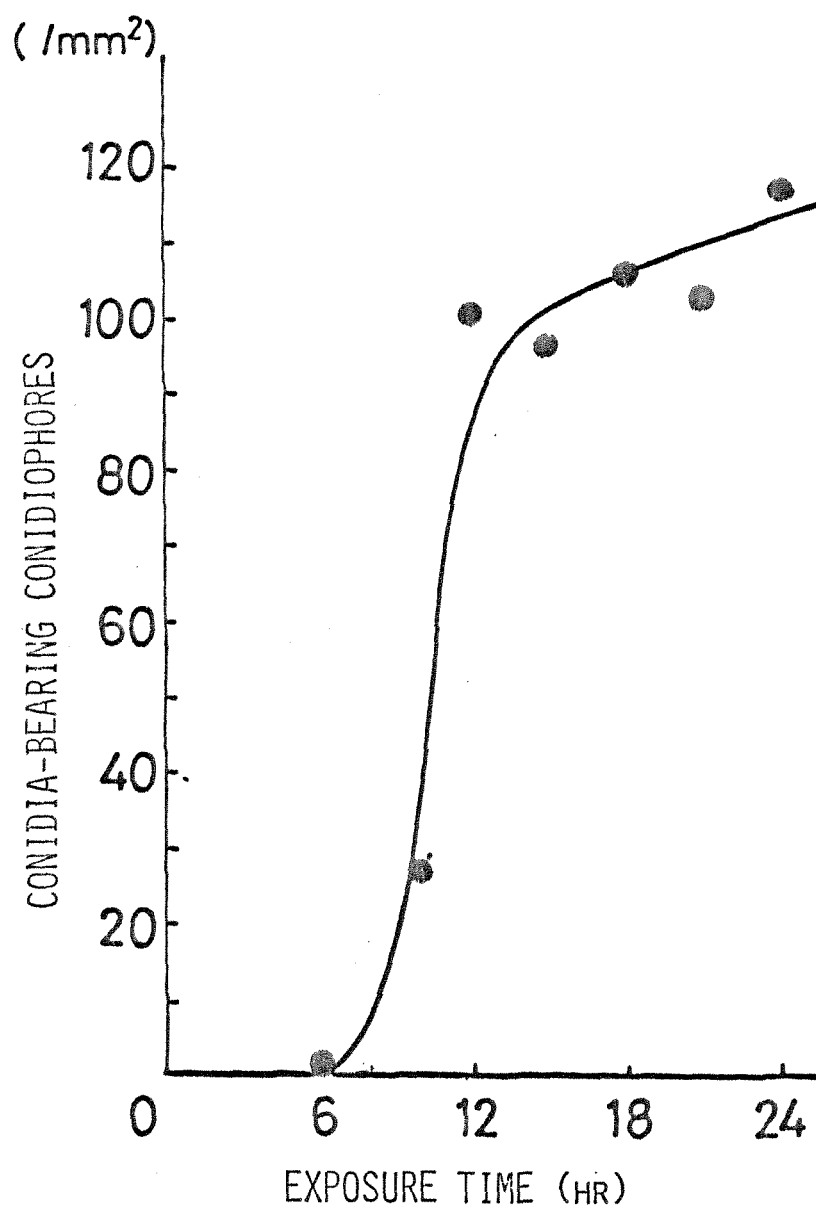
图 3. Effect of near-UV and blue light on the induction of conidiophore and conidia formation.

表 2. Effect of light quality on sporulation in Botrytis cinerea

Light quality	Irradiance ($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$)	No. of conidia/ mm^2 ($\times 10^2$)
BLB	3000	85
NUV	500	53
White	2800	60
Blue	1500	0
Green	2500	0
Yellow	2000	0
Red	2000	0
Far-re	2400	0
Dark	-	0

糸へと脱分化した。この場合、12時間の青色光照射後、引き続き暗黒下に移しても分生胞子の形成は全くみとめられなかった。このように、*B. cinerea* の分生胞子形成過程には、少なくとも一つの発育相、すなわち近紫外光照射による分生子柄形成誘導のための発育相と、分生子柄形成誘導後、暗黒下で分生胞子形成が進行する発育相が存在し、しかも分生子柄形成後の発育相は青色光によって阻害されることが明らかとなった。

次いで、分生子柄形成誘導に必要な BLB 照射時間について検討した。3日間暗黒培養した菌叢に、種々の期間、BLBを光照射し、照射後24時間の暗黒下で培養した後、分生胞子の着生した分生子柄数を調査した。その結果、図4に示されるように、1～3時間の照射では分生子柄の形成は誘導されないが、6時間の照射によって始めて分生子柄の形成がみとめられ、その後照射期間を増すにつれて単位面積当りの胞子着生の分生子柄数は増加し、

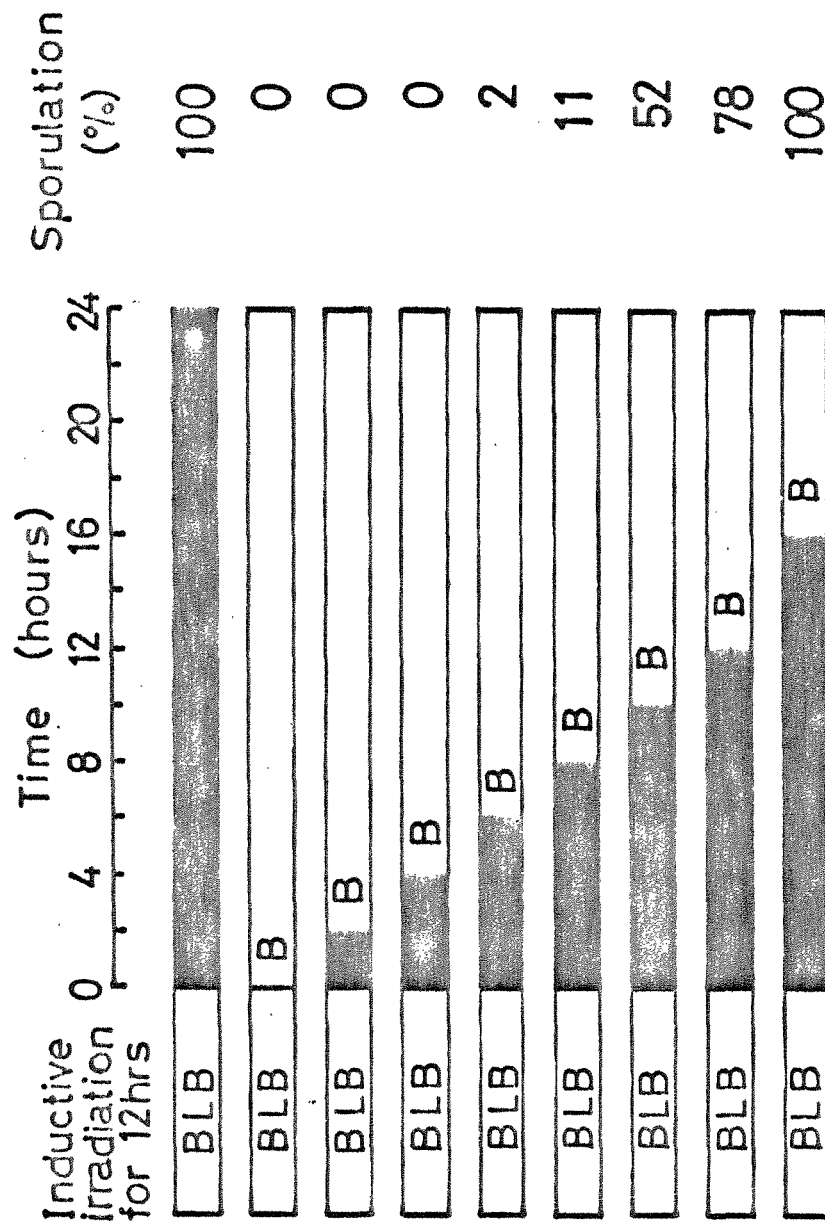


☒ 4. Effects of BLB radiation on the induction of sporulation in B. cinerea.

12時間のBLB照射によって、ほぼ飽和に達した。

これらの結果から、分生子柄形成誘導の照射時間は、12時間が適当であるので、とくに記さない限りこの照射時間を以後の実験に用いた。

図3で示されたように、近紫外光照射によって誘導された分生子柄は、その後青色光照射下に置かれることによって気中菌糸に脱分化することかみとめられた。さらに、分生子柄形成誘導後の暗期中における青色光照射下による胞子形成の阻害相を決定するために以下の実験を行なった。まず、図5に示されるように、12時間のBLB照射に引き続き、種々の長さの暗期を与え、その後青色光を連続照射した。その結果、BLB照射後、8時間の暗期を挿入した後、青色光を照射すると胞子形成は阻害され、0~11%の胞子形成率を示した。しかしながら、さらに暗期の長さを増すと青色光照射による阻害作用は低下し、12時



5. Duration of darkness necessary to recover from blue light-induced suppression.

間から16時間の暗期を挿入した後では、むしろ青色光による阻害作用はみとめられない。

これらの結果から、青色光による胚子形成阻害相は、BLB照射後の暗期開始後、12時間以内に存在する。さらに、BLB照射後の24時間の暗期中、種々の時期に2時間ずつの青色光中断を行なった。図6に示されるように、暗期開始直後から3時間目までと9時間目以降に照射された青色光は胚子形成をほとんど阻害しないが、暗期開始後5～8時間目に照射した青色光は胚子形成を著るしく阻害する。

これらの結果から、青色光阻害相は分生子柄形成誘導のための近紫外光照射後における暗期開始後5～8時間目にあることが明らかになった。また、分生子柄形成誘導後の分生胚子形成における発育過程において、青色光は分生子柄の成熟過程におけるある一定の発育過程に作用するものと考えられる。

胚子形成を阻害するのに必要な青色光の照

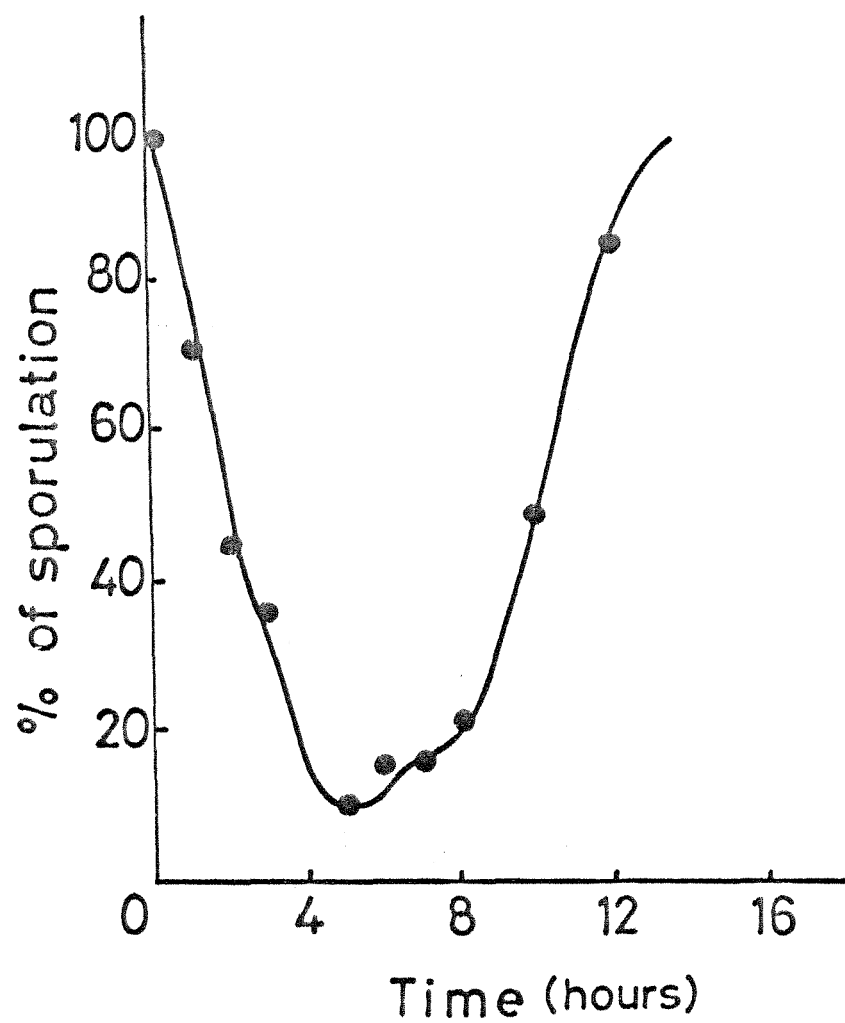


Fig. 6. Effective phase of suppression by blue light irradiation in the sporulation of *B. cinerea*.

射時間を調べるために、近紫外光照射後における暗期開始後5時間目に種々の長さの青色光を照射した。図3に示されるように、30分間照射した場合、胞子形成阻害率は60%であったが、その後さらに60分、120分と照射期間を延長するにしたがって、胞子形成阻害率はそれぞれ75%、90%と増加し、240分の照射によって、胞子形成はほぼ完全に阻害された。このように、本菌の分生胞子形成は分生子柄形成誘導のための近紫外光照射後における暗期開始後5時間目に照射された青色光によって阻害されることが明らかとなった。

前述したように、近紫外光照射後の暗期中に照射された青色光によって、形成された分生子柄は気中菌糸に脱分化する。しかしながら、長時間のBLB連続照射下では、形成誘導された分生子柄はその後、発育過程は進行せず、したがって分生胞子を形成しないが、分生子柄成熟のある一定の発育過程を維持する。

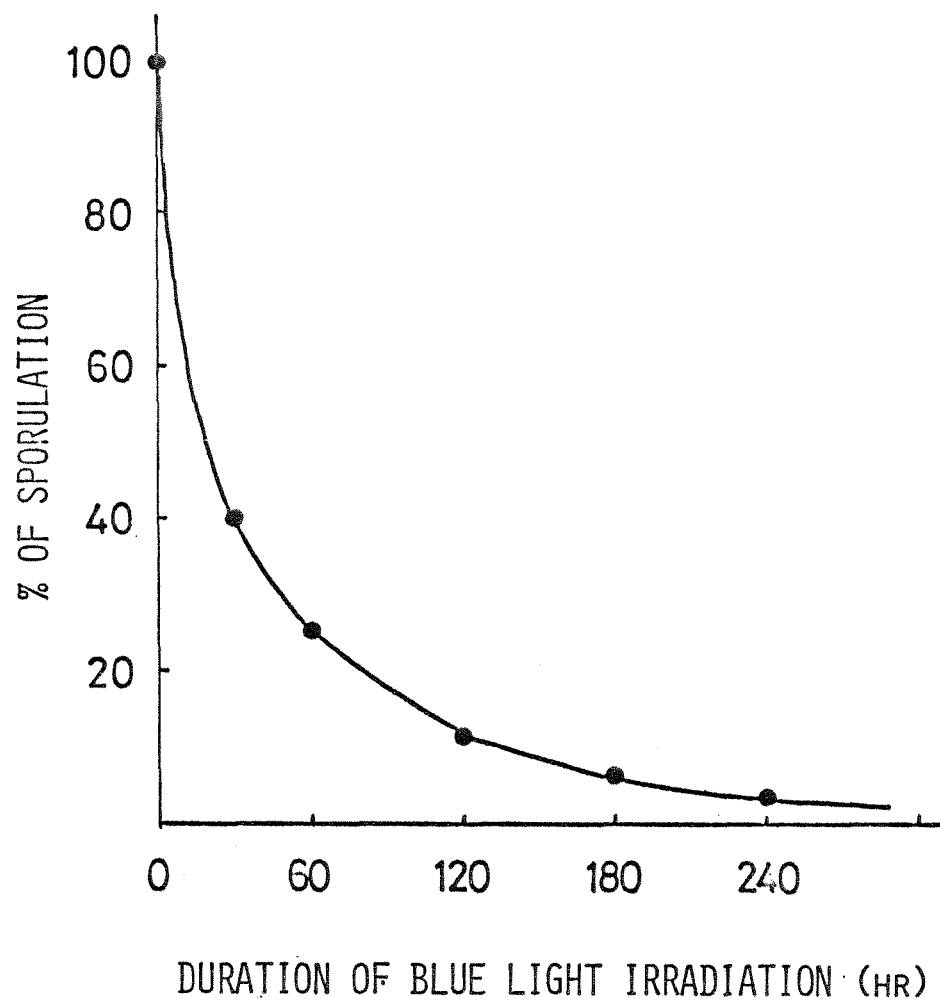


Fig. 7. Duration of blue light irradiation necessary for suppression of sporulation.

この現象は *H. oryzae*, *A. tomato* における場合と同じであり、BLB中に含まれる近紫外光と青色光の相反する作用、すなわち近紫外光の作用による胞子形成への方向と青色光の作用による気中菌糸への脱分化の方向の拮抗作用が本菌の胞子形成過程においても作用しているものと考えられる。そこで、青色光による胞子形成の阻害効果に対する近紫外光による回復効果について検討した。

12時間のBLB照射によって分生子柄形成を誘導し、引き続き24時間暗黒下で培養したものを対照区とし、BLB照射後における暗期開始後5時間目に青色光を照射した後、種々の長さの近紫外光（BLBを光源にして、UV-D1Aフィルターを通すことにより得られた。）を照射した場合における胞子着生の分生子柄数を比較した。図8に示されるように、80分の近紫外光照射によって50%、60分では90%、120分では100%の胞子形成率がみとめられた。これらの結果から、青色光による阻

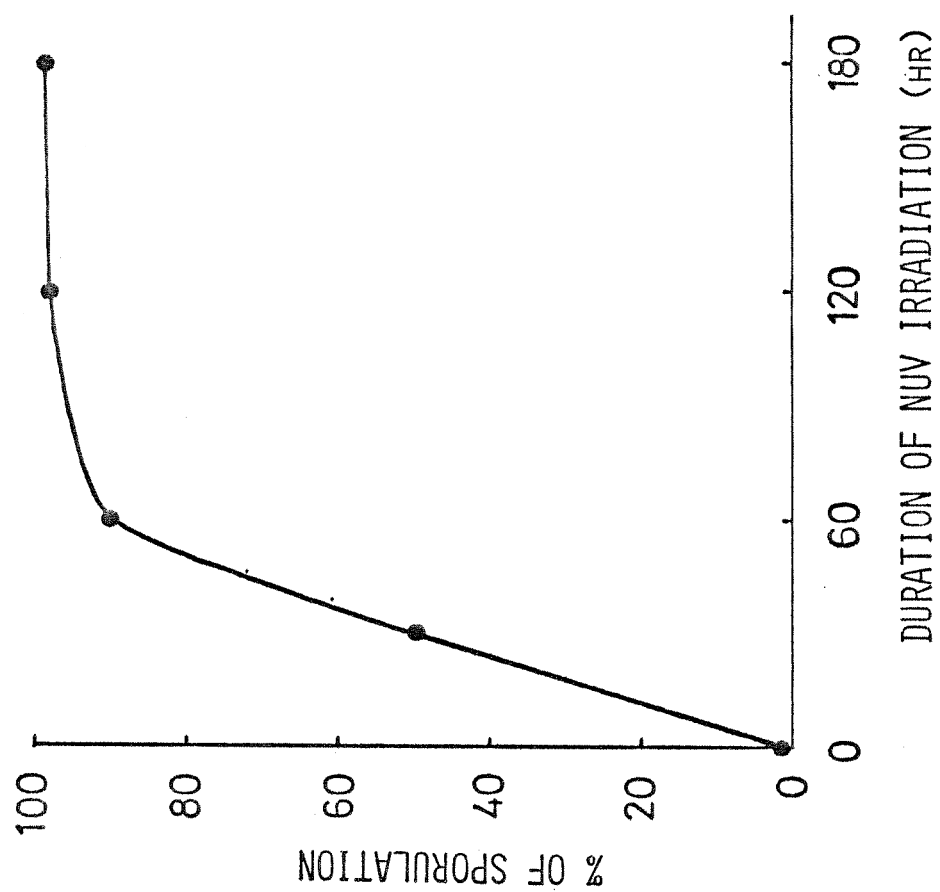


Fig 8. Duration of near-UV irradiation necessary to reverse the blue light-induced suppression.

害はその直後に与えられた短時間の近紫外光照射によって回復することゝ明らかとなった。さらに、青色光と近紫外光の反復照射による光可逆性が成立するかどうかについて検討した。青色光と近紫外光はそれぞれ1時間ずつ交互に照射した。その結果、表3に示されるように、暗期開始後5時間目に青色光を照射すると28%の胞子形成率を示すが、青色光照射直後に近紫外光を照射することによって青色光阻害は回復し、95%の胞子形成率を示した。さらに、近紫外光照射直後に青色光を照射すると、再び胞子形成は阻害され、52%の胞子形成率を示した。このように、青色光による胞子形成の阻害は引き続き照射された近紫外光によって回復する。しかも、この二つの光の作用は繰り返しが可能であって相互に可逆的であり、最終的な生理的效果は最後に与えられた光の質によって決定されることゝ明らかとなった。

表3. Production of fertile conidiophores by B. cinerea after exposure to blue and near-UV light in sequence.

Irradiation programme	Conidia-bearing conidiophores (% of control)
24 D (control)	100 [*]
N	107
B	28
B+N	95
B+N+B	52
B+N+B+N	81
B+N+B+N+B	55

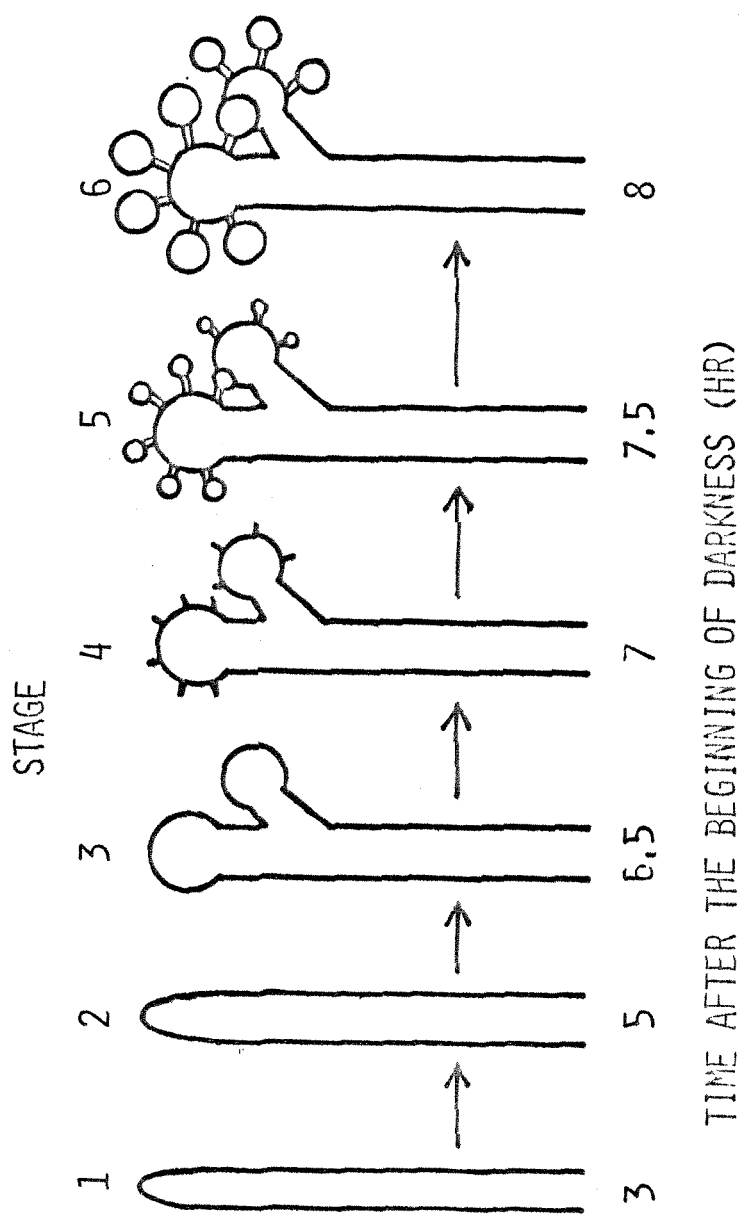
D: dark, B: blue light, N: near-UV light.

* Equivalent to 103 mm^{-2} .

2. 分生子形成の発育過程における青色光と近紫外光の光可逆的反応系の所在

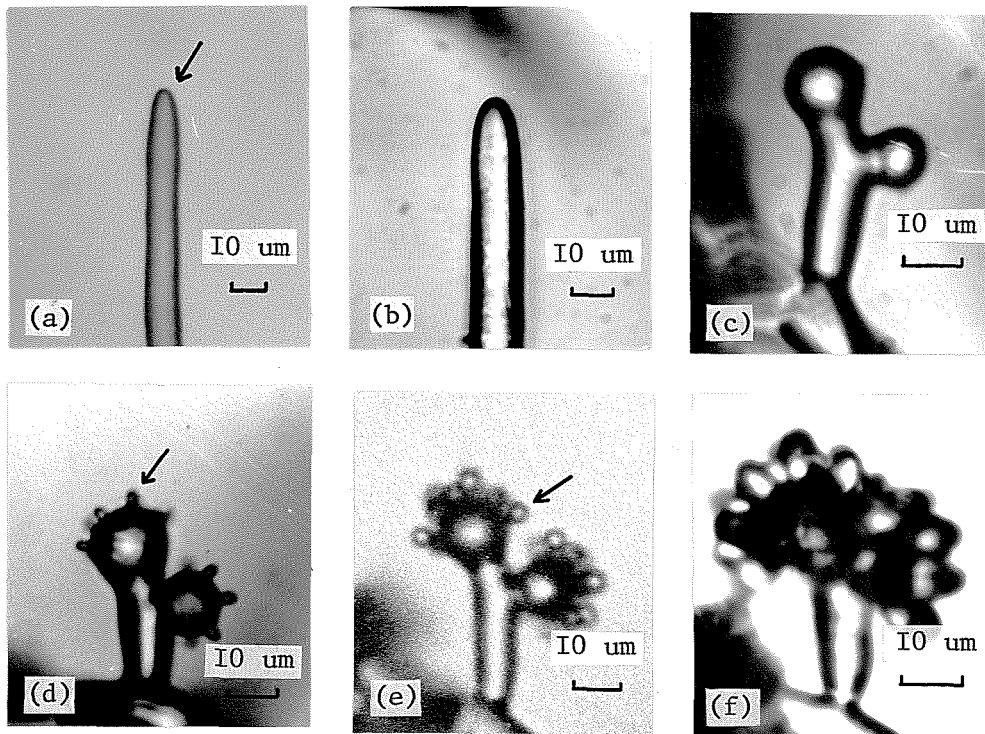
前述したように、分生子柄形成誘導のための近紫外光照射後の暗期開始後5～8時間目に青色光による胞子形成阻害相が存在することかみとめられたが、この青色光は最終的には胞子形成にいたる分生子柄のどの発育過程に作用するのであろうか。また、青色光の阻害に対する近紫外光の回復効果が同じ発育過程に作用するのであろうか。これらの関係を明らかにするために任意に標識した1本の分生子柄を用い、それぞれの形態的発育段階に対応して青色光および近紫外光を照射し、青色光と近紫外光の光可逆的反応系の所在を検討した。

本菌の分生子柄の発育過程は図9と10に示されるように、形態的に明らかに異なる6つの発育段階に分けることができる。すなわち、



TIME AFTER THE BEGINNING OF DARKNESS (HR)

- ② 9. Developmental stages of conidiophores of *B. cinerea* in darkness.
 Stage 1, initial conidiophore; Stage 2, mature conidiophore;
 Stage 3, spherical ampulla at tip of conidiophore; Stage 4,
 denticles blown out from the ampulla; Stage 5, conidium initials
 at the tips of the denticles; Stage 6, mature conidia.



10. Developing conidiophores under the darkness. (a) stage 1, initial conidiophores with a slightly pointed tip (arrowed); (b) stage 2, mature conidiophore; (c) stage 3, spherical ampulla at the tip of conidiophore; (d) stage 4, denticles blown out from the ampulla; (e) stage 5, conidium initials at the tips of the denticles; (f) stage 6, mature conidia.

Stage 1 (誘導光照射後の暗期開始後3時間目)、この段階の初期分生子柄は栄養菌糸とはっきり区別され、まっすぐ垂直に伸びた菌糸で、その先端はわずかにと尖かっている。

Stage 2 (誘導光照射後の暗期開始後5時間目)、分生子柄はさらに太く、暗緑色になり、約1mmの長さに分化する。

Stage 3 (誘導光照射後の暗期開始後6.5時間目)、この段階の分生子柄は、単枝、あるいは、しばしばいくつかに分枝するか、その先端がわずかに丸くなった後、伸長を停止する。やがて、分生子柄の先端は膨張し、直径13 μ mの球状の器官に発育する。この器官が 'ampulla' である。

Stage 4 (誘導光照射後の暗期開始後7時間目)、ampulla の大きさか最大に達すると、その表面上に規則的な間隔で、あたかも吹き出物のように尖針状の突起が生じ、これは 'denticle' の始原体である。この始原体は

やかて、たる状になって *denticle* に分化する。

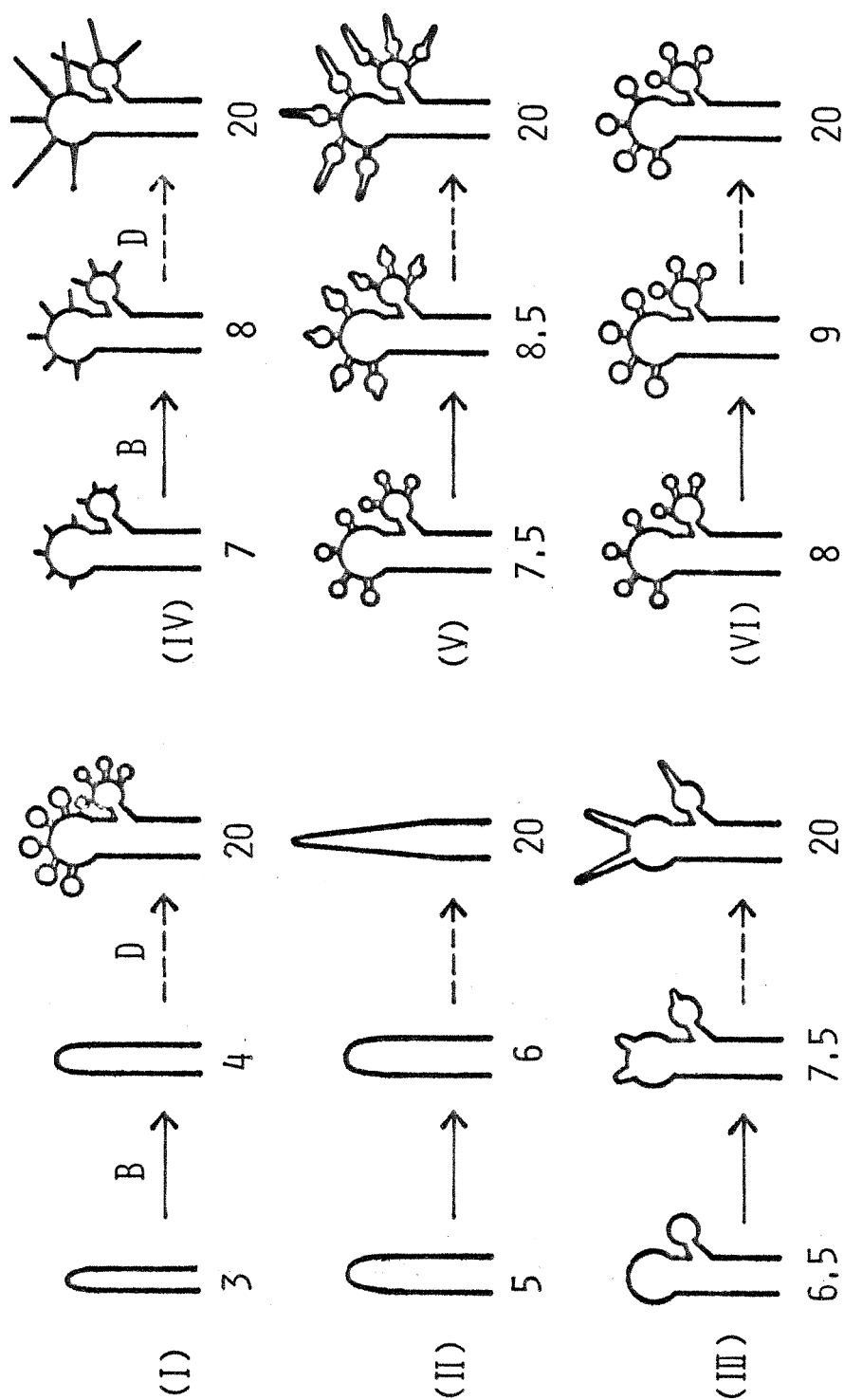
Stage 5 (誘導光照射後の暗期開始後7.5時間目)、*denticle* は短筒状に生育して、
‘分生胞子を着生するための柄’になり、*ampulla* の表面上に形成された各々の *denticle* の先端に球状の分生胞子の始原体 ‘*conidium initial*’ が形成された。

Stage 6 (誘導光照射後の暗期開始後8時間目)、分生胞子は直径 $10\mu\text{m}$ の球状胞子に生育し、‘分生胞子の柄’に隔膜を發育して完全に成熟する。

標識した1本の分生子柄を用いた予備実験では、分生子柄形成のための近紫外光照射後の暗期開始後5時間目に1時間青色光を照射することによって、胞子形成は完全に阻害され、誘導された分生子柄は気中菌糸に脱分化した。しかし、15分または30分の照射では、胞子形成に対する阻害作用は不安定であった。そこで1時間の青色光照射期間を用い、図9と10に示されるような分生子柄の發育過程に

対応した各々の発育段階で、任意に標識した分生子柄に1時間の青色光を照射し、その後20時間後まで30分ごとに形態変化を顕微鏡下で経時的に追跡した。その結果を図11と12に要約した。Stage 1では、青色光による胞子形成の障害はみられず、分生子柄形成誘導のための近紫外光照射後に行ける暗期開始後20時間目には青色光を照射しない連続暗黒下で培養した場合と同じように胞子形成の進行がみられた。しかしながら、Stage 2から5の分生子柄は、1時間の青色光照射によって気中菌糸へと脱分化し、胞子形成は完全に、すなわち青色光で照射されたStage 2の分生子柄は青色光照射後7時間目に先端が細くとかかり始め、青色光照射後の暗期開始後20時間の間に、さらに細長く伸長してほぼ100 μm の長さ達した。Stage 3の *ampulla* に青色光を照射すると、‘分生胞子の柄’に生育するはずの *denticle* の始原体は形成されず、*ampulla*の表面上には、最初コブ状の器官が観察され、やがて先端の

図12. De-differentiation of conidiophores in various stages of development by blue light irradiation. (a) stage 2, conidiophore de-differentiated into sterile hypha; (b) stage 3, *ampulla* de-differentiated into sterile hypha (arrowed) without *denticles*; (c) stage 4, radially de-differentiated *denticles*; (d) stage 5, de-differentiated conidium initials, note hypha developing from conidium initial (arrowed)。図は45ページ。



TIME AFTER THE BEGINNING OF DARKNESS (HR)

Fig 11. Sterile conidiophores de-differentiated by blue light irradiation at various stages of conidiophore development. B: blue light, D: dark.

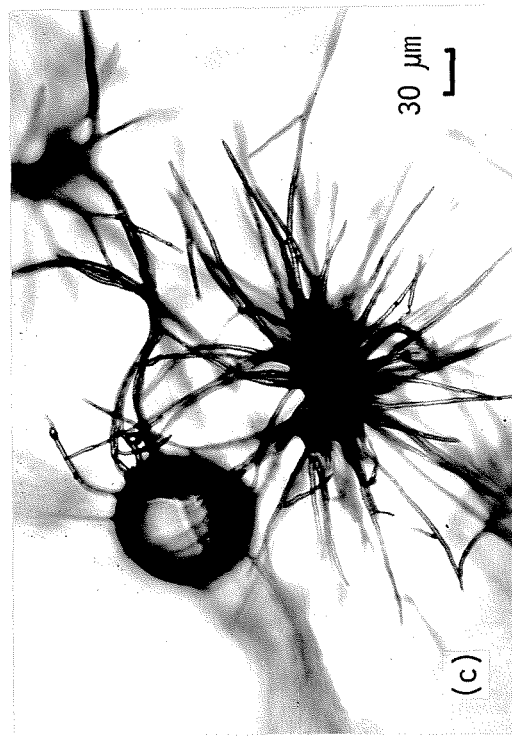
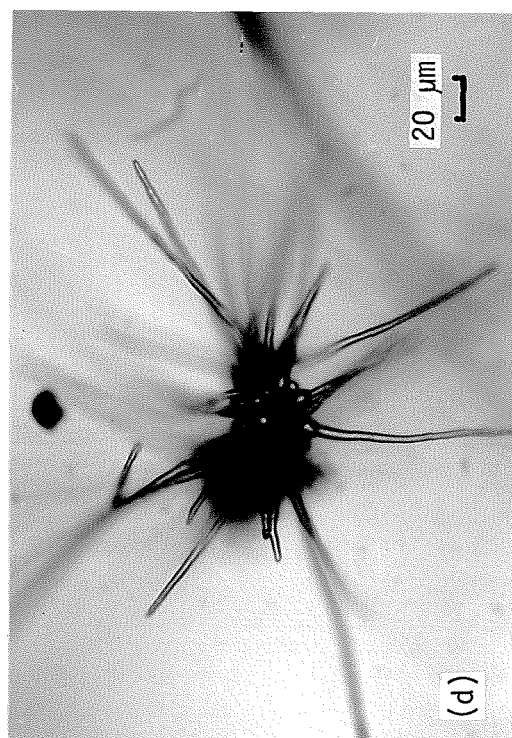
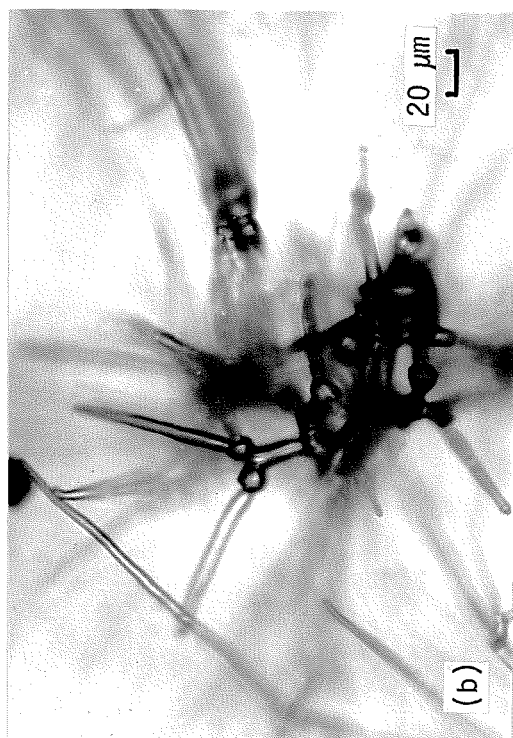


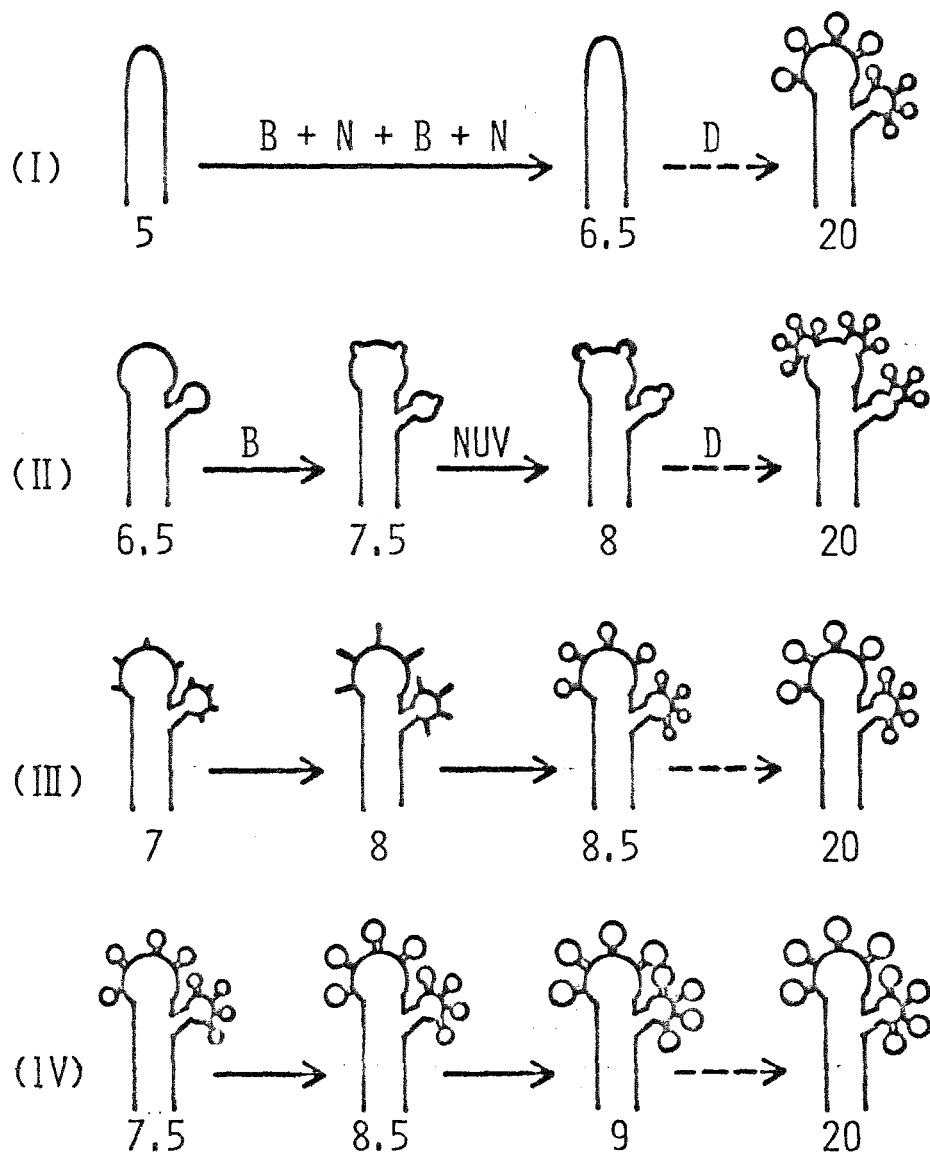
図12. 図の説明は43ページ.

とがった気中菌糸に伸長した。Stage 4 の denticle に青色光を照射すると、denticle は筒状になり、ampulla の表面上に細長い多数の菌糸を形成し、やがて放射状に先端のとがった菌糸が伸長した。Stage 5 の分生胞子の始原体に青色光を照射すると、この始原体は成熟しないで気中菌糸に脱分化した。しかし、Stage 6 になると、青色光を照射しても、この發育段階では、もはや青色光の影響を受けず、青色光を照射しない場合と同じように、正常な胞子形成の過程がみとめられた。

このように Stage 2 から Stage 5 の發育段階にある分生子柄は青色光照射によって細長い気中菌糸へと脱分化し、胞子を形成する能力を失なう。この發育段階が、菌叢を用いて得られた結果、すなわち分生子柄誘導のための近紫外光照射後の暗期開始後 5 ～ 8 時間目にみとめられた青色光阻害相に対応するものと考えられる。

ここで、前述したように、本菌の胞子形成

は青色光を近紫外光を交互に照射することによって制御され、その生理的効果は最後に照射される光の質に依存していることが明らかとなっているが、次のような問題が提起される。すなわち、近紫外光照射は青色光照射によって影響された発育段階と同一の発育段階に作用するのであろうか？ すなわち、青色光と近紫外光の光可逆的反応系は分生孢子形成過程の同一の発育段階で相互に作用しているのであろうか？ この疑問を解明するために、任意に標識した1本の分生子柄を用い、各々の発育段階にある分生子柄に青色光と近紫外光を交互に照射し、その生理的効果を顕微鏡下で追跡した。その結果を図13に要約した。stage 2で青色光照射直後に近紫外光を照射すると、青色光の影響を受けず、孢子形成は全く正常に進行した。stage 3、4および5についても、ほとんど同じような結果が得られた。さらに、青色光と近紫外光を交互に反復して照射した場合、とくにstage 2において



TIME AFTER THE BEGINNING OF DARKNESS (HR)

Fig. 13. Diagram showing the blue and near-UV reversible photoreaction at various stages in the development of the conidiophore.

顕著に反復的光可逆性がみとめられた。すなわち、最終的に青色光を照射すると、胞子形成はみられず、一旦形成された分生子柄は気中菌糸へと脱分化した。また、最終的に近紫外光を照射すると、青色光照射による阻害効果は打ち消され、分生子柄上に分生胞子を着生した。この近紫外光照射による青色光阻害の回復効果は青色光照射直後に近紫外光を照射した場合、最大であり、青色光照射と近紫外光照射の間に暗期を挿入すると、暗期の長さが長くなるにつれて、近紫外光照射による回復効果は低下した。この近紫外光照射による回復効果は、5時間目の暗期までみられたが、その後には与えられた近紫外光照射はもはや回復効果を示さなかった。

これらの結果から、青色光と近紫外光の効果は同一の発育段階でのみ作用することが明らかとなった。

3 小 括

Botrytis cinerea の分生胞子形成過程には、少なくとも二つの発育相、すなわち近紫外光照射による分生子柄形成誘導のための発育相と、分生子柄形成誘導後暗期下で分生子柄形成が進行する発育相が存在し、しかも分生子柄形成後の発育相は青色光によって阻害される。さらに、この青色光阻害効果は青色光照射直後の近紫外光照射によって打ち消され、本菌の分生胞子形成過程にも *H. oryzae* や *A. tomato* の場合と全く同様の青色光と近紫外光の光可逆的反応系、すなわちマイコクローム系が関与していることが明らかとなった。

H. oryzae や *A. tomato* の分生胞子形成において、この光反応系は分生胞子形成過程の前段階である分生子柄の成熟過程において作用するものと推定されていたが、その詳細については全く不明であった。*Botrytis cinerea* の分生胞子形成における分生子柄の発育過程は

任意に標識した1本の分生子柄を用いて形態的に明らかに異なる6つの発育過程に分けることかでき、stage 2からstage 5の発育段階にある分生子柄のみが青色光照射によって細長い気中菌糸へと脱分化し、胞子形成能を失なう。さらに、この青色光阻害を受けた各々の発育段階にある分生子柄は青色光照射直後における近紫外光の照射によって脱分化することなく、しかも他の部位に新たな分生子柄形成を誘導することなく正常な胞子形成を行なう。

したがって、胞子形成過程における青色光と近紫外光の光可逆的反応系は、ある特定の発育段階でのみ機能することになった。

今後、微光束を用いて、より詳細に分生子柄に対する青色光と近紫外光の色系系の所在および作用部位を明らかにすることは興味ある課題の一つである。

V 菌核の形成過程における光の役割

Botrytis cinerea は、これまで述べてきた分生胞子の他に、もう一つの無性生殖器官として菌核、すなわち個々の菌糸体の絡み合いによってできる一種の柔組織構造をもつ器官も形成することが知られている。

この菌核については、これまでに菌核形成過程における発育の形態的差異によって *loose type*, *terminal type* および *lateral type* の三つに分類できるとされ^(69,76) *Botrytis cinerea* は *terminal type* だけを形成するものとされている。しかしながら、本研究では環境要因を制御することによって、*terminal type* はもちろん、本菌においては形成されないとされてきた *lateral type* の菌核をも自由に形成させうることを見い出した。すなわち、*terminal type* の菌核形成は栄養菌糸の先端をカバーガラスでマウンティングすることによる物理的接触刺激によって誘

導されるが、カバーガラスのマウンティングを20時間以内に除去した場合、形成誘導された菌核原基は脱分化する。しかし、24時間マウンティングした後、カバーガラスを除去した場合においては、形成誘導された菌核原基は脱分化せず正常に発育が進行するが、この場合カバーガラス除去直後に与えられる青色光照射によって脱分化し、尖針状の菌糸が伸長する。また、この青色光による阻害効果は青色光照射直後に与えられた近紫外光照射によって打ち消される。一方、*lateral type*の菌核は20℃の暗黒下で3日間前培養した菌叢を30℃で24時間高温培養し、再び20℃の暗黒下で168時間培養することによって、高温培養開始時の菌糸の先端直傍に形成されるが、高温培養後の低温培養開始後60時間目に青色光および近紫外光を照射することによって阻害される。

本章では、両発育型菌核の発育過程を詳細に検討し、分生胞子の形成条件と両発育型の

菌核の形成条件とを比較研究することによって本菌におけるこれらの無性生殖器官の機能とその意義について検討した。

1 Terminal type の菌核形成過程における光の役割

(i) Terminal type の菌核原基形成における誘導条件

前述したように、terminal type の菌核形成はカバーガラスを栄養菌糸の先端に接触させることによって、接触した栄養菌糸の先端に誘導され、この菌糸先端で規則的な分枝パターンを繰り返えして発育する。

まず、本発育型の菌核形成過程における光の役割を明らかにするために、その前段階として、菌核原基形成の時間的推移、温度の影響、カバーガラスのマウンティング期間、原基発育に及ぼす光の効果などについて検討し

た。

菌核原基形成における温度の影響を調べるため、3日間暗期培養した菌叢の周辺部にカバーガラスをマウンティングし、5、10、15、20、25、27および30℃の温度条件下で暗黒に40時間おいた後、形成された菌核原基数を計数することによって、菌核原基形成誘導における培養温度の効果を比較検討した。その結果、図14に示されるように、5℃の温度条件下では、菌核原基数は18mm²あたり30であり、10℃では、60であった。しかし、15℃の下では、18mm²あたりの菌核原基数は急激に増加し、175になった。さらに、20、25、27および30℃と温度を上昇させても、それ以上の菌核原基数の増加はみられず、15℃と同様に175であった。また、菌核原基の発育過程と顕微鏡で経時的に観察したところ、5～27℃の温度範囲では正常な発育過程を経過し、マウンティング後40時間目には、誘導した菌核原基は黒色

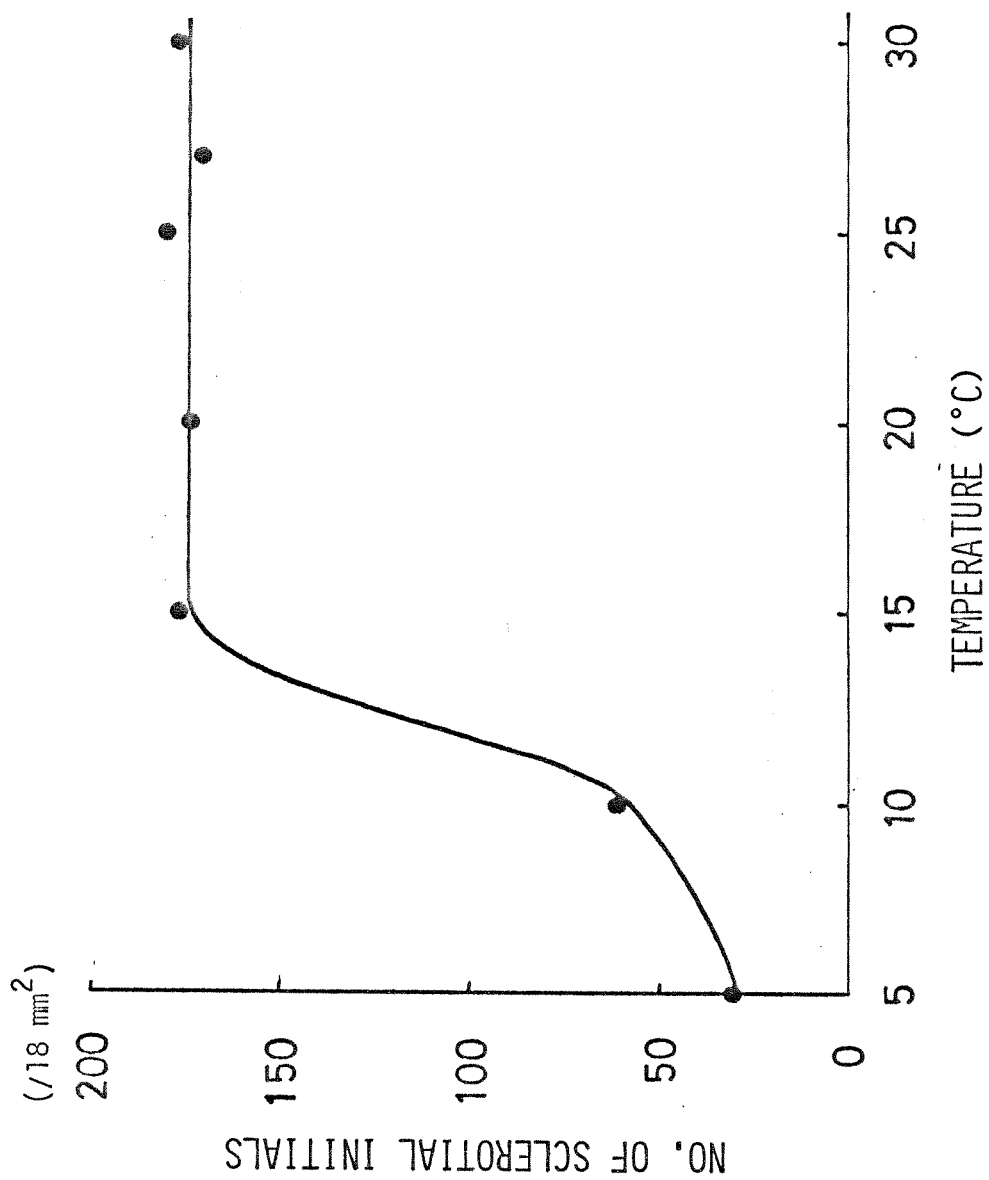
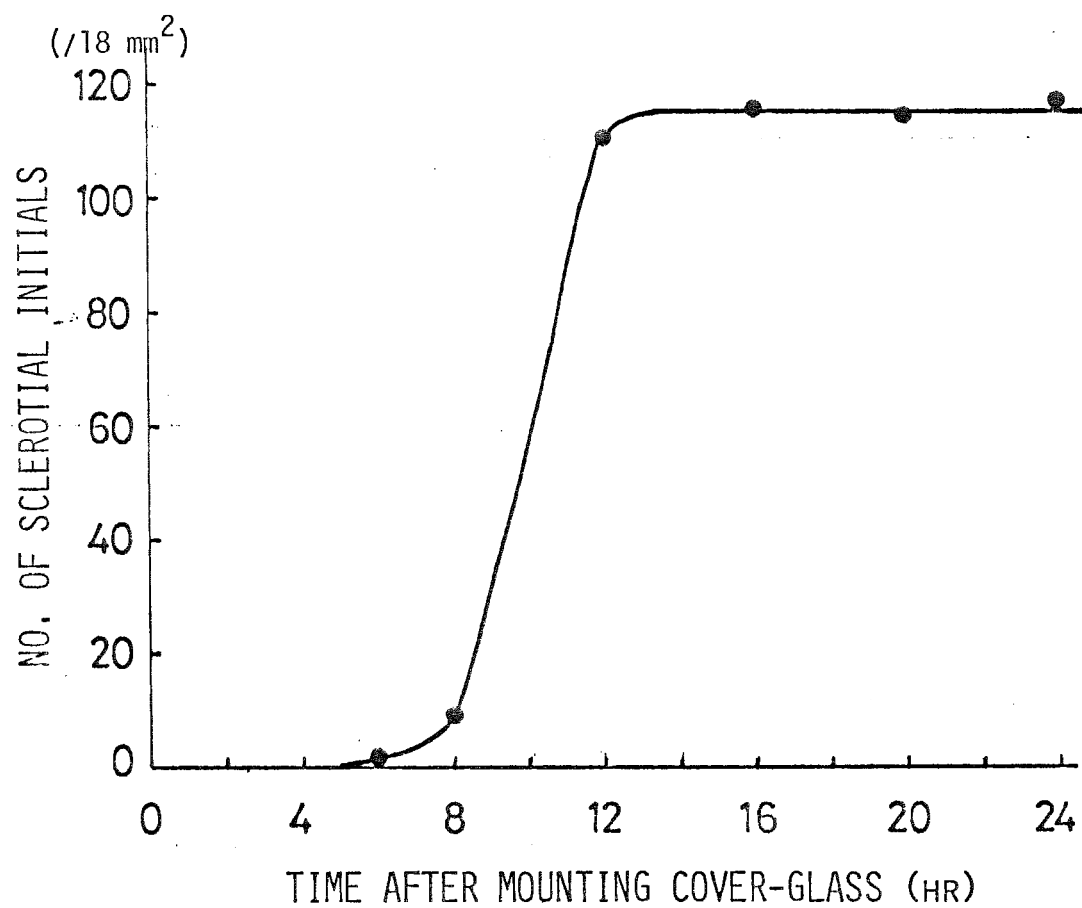


Fig 14. Effect of temperature on sclerotic initial formation (terminal type).

を呈し、成熟した菌核へと発育した。しかし、 30°C では、菌核は黒色を呈するが、外部形態的には未成熟で、正常な発育進行を示す 20°C の菌核原基発育過程のほぼ20~24時間目（後述のStage3）に相当する発育段階で停止したままであった。

これらの結果から、菌核原基形成の誘導には 15°C から 27°C までの温度が好適であると考えられる。したがって本研究では、以後の種々の実験には 20°C を採用した。

次いで、3日間暗期培養した菌叢の周辺部にカバーガラスをマウンティングし、菌核形成過程の時間的経過を観察した。図15に示されるように、栄養菌糸からの菌核原基の発育分化は、カバーガラスのマウンティング後6時間目からみとめられ、8時間目には、 18mm^2 あたり8個の菌核原基が形成された。その後菌核原基数は急激に増加し、12時間後には110個の形成がみとめられた。それ以後、菌核原



- ☒ 15. Time course of sclerotial formation (terminal type).
Cover-glasses were mounted on the periphery of a colony
grown under darkness for 3 days at 20 °C.

基数の増加はほとんどみられず、誘導された菌核原基は盛んに先端分枝を繰り返えし、カバーガラスのマウンティング後40時間目には黒色の菌核に成熟した。

菌核の原基形成はカバーガラスを栄養菌糸の先端にマウンティングすることによって、ガラス平面と接触した菌糸の先端に誘導される。したがって、菌核原基形成を誘導するためには、栄養菌糸とカバーガラス平面とが接触している期間が問題になるものと考えられる。そこで、3日間暗期培養した菌叢の先端にカバーガラスをのせ、種々の長さの接触期間を設けて、菌核の原基形成誘導に必要なマウンティング期間を検討した。

カバーガラスのマウンティング期間を1, 2, 4, 8, 12および14時間と変化させ、その後、カバーガラスを除去し、菌核原基形成を顕微鏡下で経時的に観察した。菌核原基形成が誘導されているか否かはカバーガラスを

除去した後24時間目に判定した。表4に示されているように、1、2、および4時間までマウンティングした場合、菌核原基形成はみとめられないが、8、12および14時間マウンティングしておくと、はじめて菌核原基が形成された。これらの接触期間によって誘導された菌核の原基形成数はカバーガラス除去後の暗期培養中には増加せず、除去直後にみとめられた原基数と一致した。さらに、興味あることは24時間より短時間のマウンティングにより形成誘導された菌核原基はカバーガラスと除去することによって、除去後3時間目には脱分化し始め、尖針状の菌糸が伸長した。しかしながら、後で述べるように24時間以上マウンティングした場合においては、形成誘導された菌核原基はカバーガラスを除去しても脱分化することなく、成熟した菌核へと発育した。

したがって、菌核原基形成の誘導および誘導以後の発育進行には一定期間の連続して与

表4. Duration of mounting cover-glass necessary to induce sclerotial initials (terminal type)

Duration of mounting (h)	Formation of sclerotial initials	Development of sclerotial initials after removing	No. of sclerotial initials (118 μm^2) before removing after removing
1	-	-	0
2	-	-	0
4	-	-	0
8	+	-	14
12	+	-	115
14	+	-	120
			118

えられる接触刺激が必要であるものと考えられる。

前述のように24時間より短時間のマウンティングによって誘導された菌核原基は形成誘導後、カバーガラスを除去することによって脱分化した。そこで、菌核原基形成後、カバーガラスを除去しても、なおかつ、形成誘導された菌核原基が脱分化することなく成熟する発育段階があるかどうかを調べるため、カバーガラスをマウンティングすることによって菌核原基を誘導し、マウンティング後、種々の時期にカバーガラスを除去し、カバーガラス除去後20時間目で調査を行なった。さらに、それぞれのカバーガラスを除去するまでに形成された菌核原基数に対する脱分化した菌核数の百分率を求めることによって比較検討した。図16に示されているように、カバーガラスのマウンティング期間が8～20時間の場合、形成された菌核原基数の95%は栄養菌

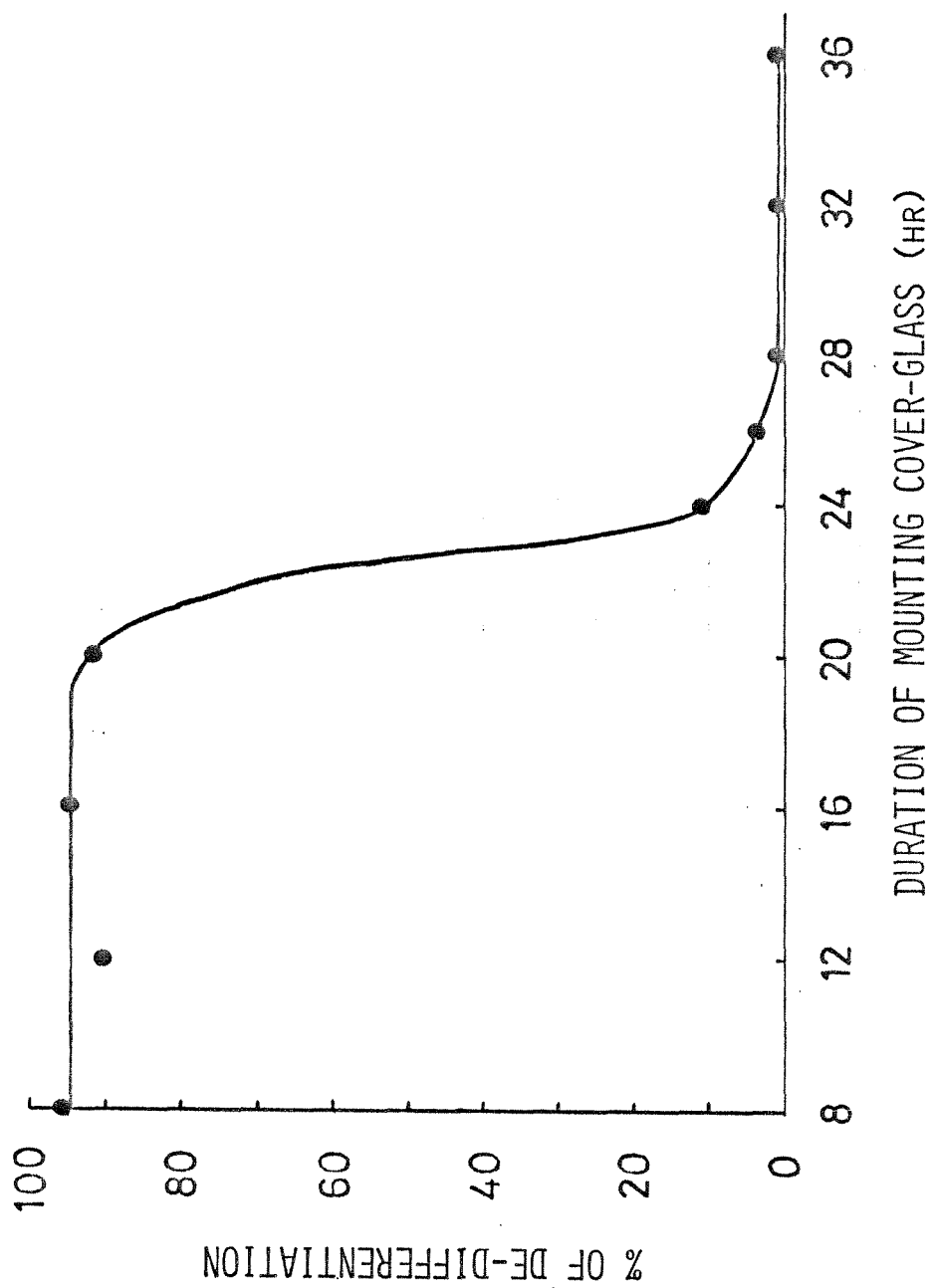


Fig. 16. Effect of duration of mounting cover-glass on sclerotial formation. Cover-glasses were removed at various times after mounting.

糸様の尖針状の菌糸が伸長し脱分化した。しかし、マウンティング期間が24時間の場合、脱分化した菌核原基数は急激に減少し、わずか10%であり、残りの90%の原基は脱分化しなかった。しかし、カバーガラス除去直後における発育段階からわずかに発育するだけで、それに引き続いた発育分化はみとめられなかった。さらに、マウンティング期間が32時間の場合、形成誘導された菌核原基は脱分化せず、カバーガラスの除去後、菌核の発育は進行し、黒色を呈して成熟した。

このように、菌核の発育が進行するためには、カバーガラスによる連続した接触刺激が菌核原基形成誘導後も必要であり、菌核形成過程のある発育段階、すなわち、カバーガラスのマウンティング後24時間目を境にして、形成された菌核原基は脱分化することなく、発育が進行し、成熟した菌核へと発育した。

(ii) Terminal type の菌核形成過程における光の影響とその有効波長域

菌核形成過程における光の影響を調べるため、24時間のマウンティング後、カバーガラスを除去し、BLBと青色光の混合光、近紫外光、青色光、赤色光および遠赤色光の種々の波長域光を16時間連続照射した（カバーガラスの連続マウンティングの実験では、40時間のマウンティングで十分成熟した菌核が形成されるので、24時間のマウンティング後16時間目に調査した）。図17に示されるように、青色光を照射すると、菌核原基はカバーガラスと接していた菌核表面から細長い栄養菌糸状の菌糸を伸長して脱分化した。しかしながら、BLB、BLBと青色光の混合光、赤色光および遠赤色光を照射した場合、菌核原基は脱分化しなかった。とくに、BLBおよびBLBと青色光の混合照射の場合、菌核原基はカバー

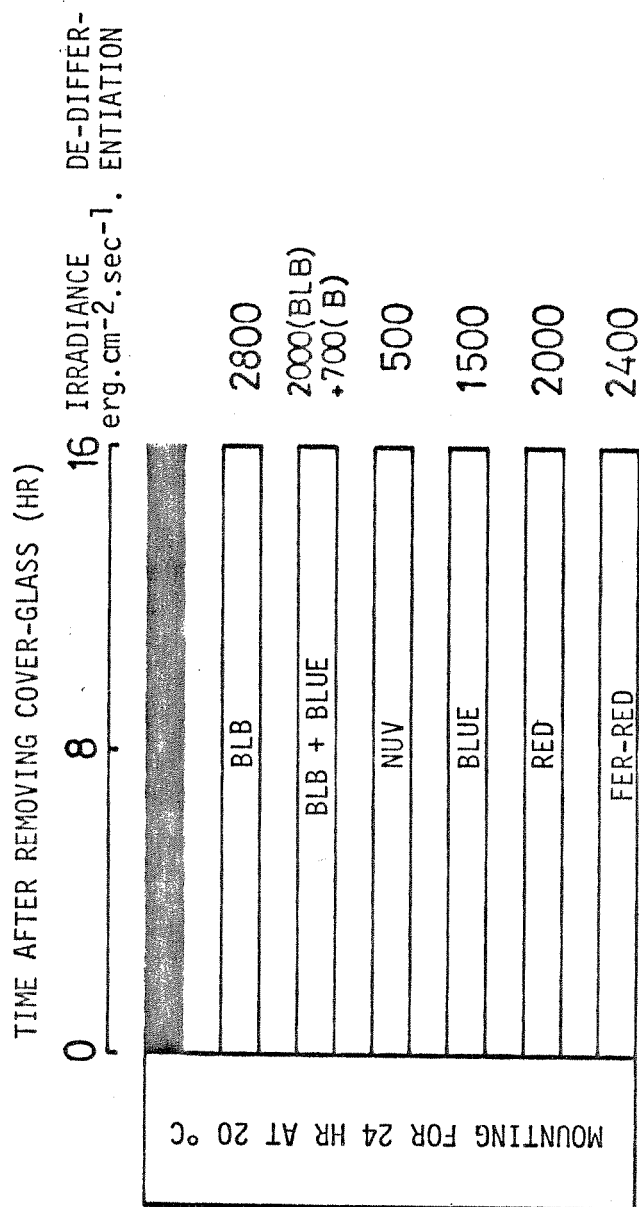


Fig 17. Effect of light quality on sclerotal formation (terminal type).

ガラス除去直後の発育段階を維持し、その後の菌核の発育はみとめられなかった。

これらの結果から、本発育型の菌核形成過程においても、分生胞子形成過程においてみとめられた青色光と近紫外光による光可逆的反応系の関与が考えられる。

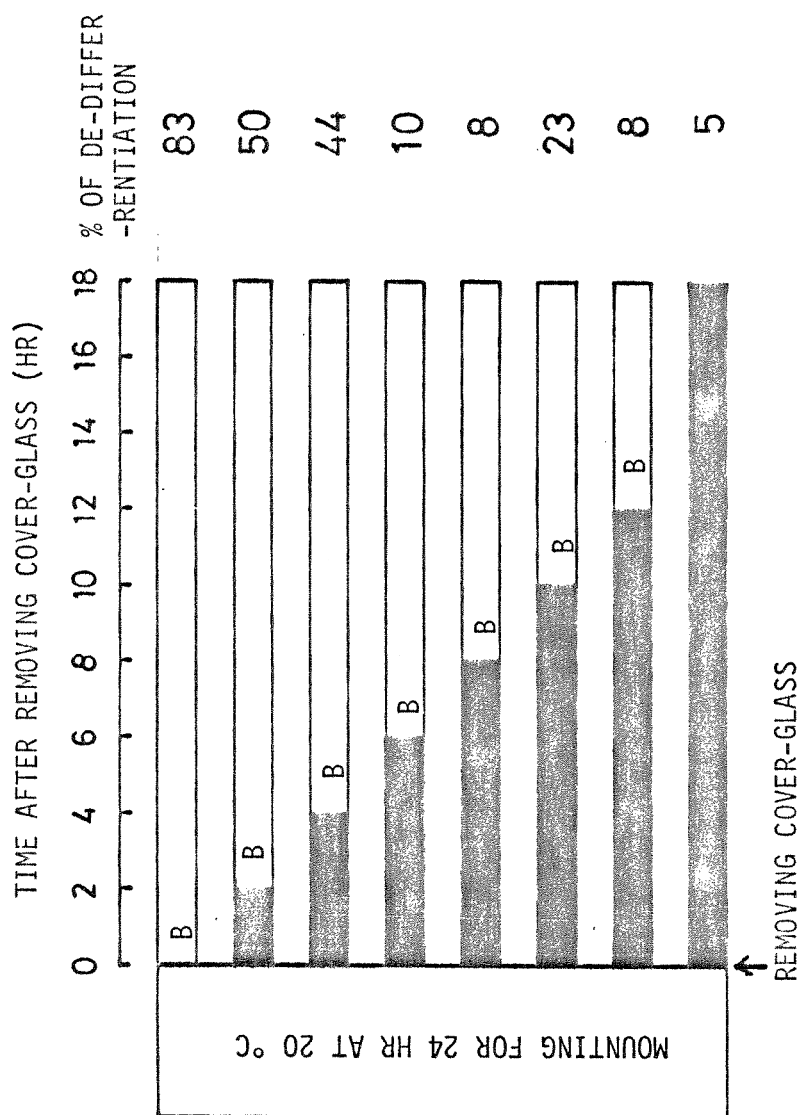
前述の図17は、カバーガラスを除去した後の発育過程における光照射の影響について検討した結果であるが、カバーガラスをマウンティングしている状態で光照射を行なうと、いずれの波長域の光も全く影響せず、カバーガラスのマウンティング後40時間目には黒色の成熟した菌核が観察された。

(iii) Terminal type の菌核形成過程におよぼす青色光の作用

以上述べてきたように、カバーガラスをマウンティングすることによって、形成誘導された菌核原基のその後における菌核の発育過程は、マウンティング除去後、青色光照射下

におかれることによつて抑制された。したがつて、この節では、24時間のマウンティング期間で形成された菌核原基についてのその後の発育過程における青色光による阻害相と青色光の照射時間について検討した。

図18に示してあるように、24時間のマウンティングによつて誘導した菌核原基に、カバーガラス除去直後から種々の長さの暗期を挿入し、その後に青色光を連続照射した。菌核形成は、カバーガラスを除去した後8時間目においてみとめられた菌核原基数と青色光照射によつて脱分化した菌核原基数を基礎にして調査した。その結果、図18に示されているように、カバーガラス除去直後から青色光を連続照射すると、形成誘導された菌核数の83%は脱分化した。また、カバーガラス除去直後から2時間ないし4時間の暗期を挿入した後、青色光を連続照射すると、それぞれ、50%、44%の菌核原基の脱分化を示した。しかしながら、6時間以上の暗期を挿入した後、

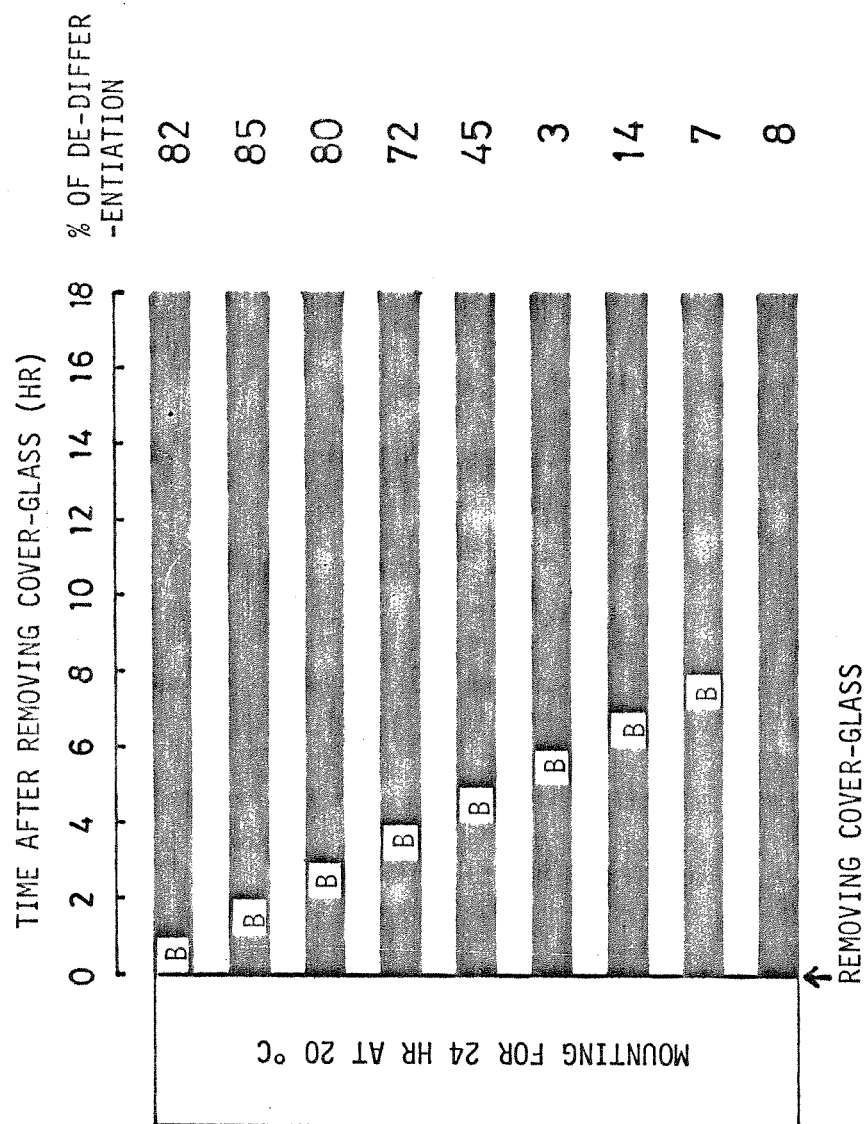


18. Duration of darkness necessary to recover from blue light-induced suppression. Cover-glass were removed after mounting for 24 hr on the periphery of a colony.

青色光を照射した場合には、脱分化した菌核原基数は減少し、10%以下であった。

以上の結果から、菌核形成過程における青色光の阻害相はカバーガラス除去後6時間以内にあることが推定された。そこで、24時間のマウンティング後にカバーガラスを除去し、それに引き続く16時間暗期中の種々の時期に1時間ずつの青色光を照射した。その結果、図19に示されるように、カバーガラス除去後0、1および2時間目に青色光を1時間照射すると、形成された菌核原基のうち約80%が脱分化し、カバーガラス除去後の青色光照射以前に挿入された暗期の長さが増すにしたがって、脱分化した菌核原基数は減少した。

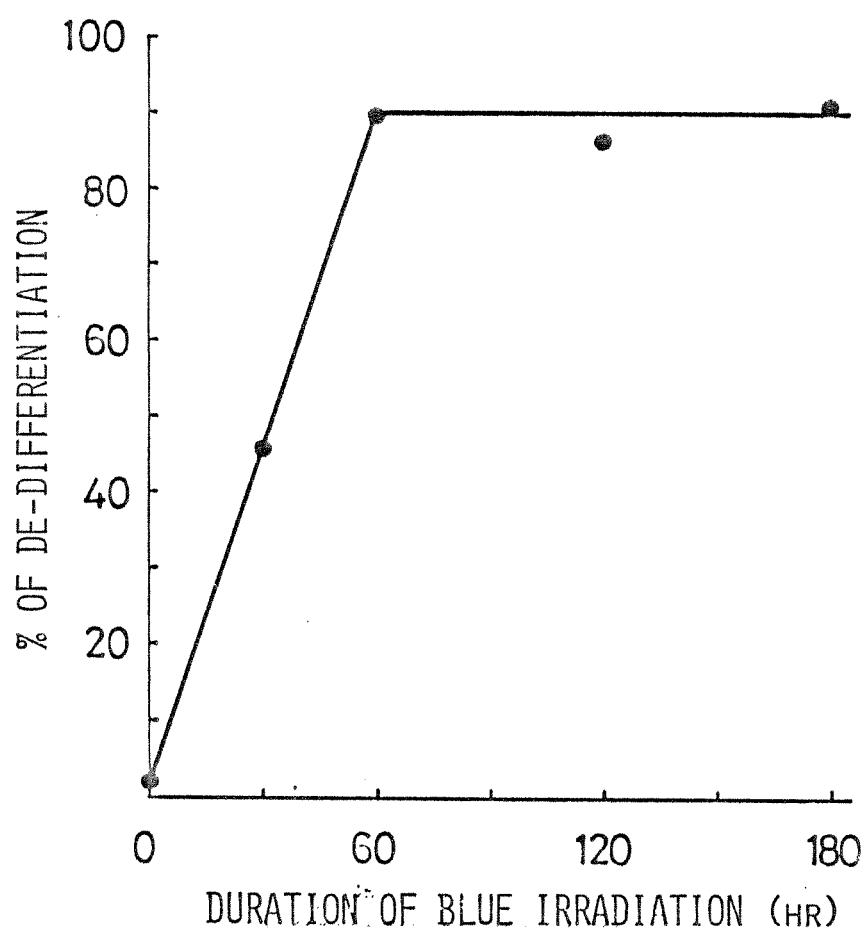
これらの結果から、菌核形成の青色光阻害相はカバーガラス除去直後、すなわち、カバーガラスを除去しても脱分化せず、菌核原基がその後成熟するにいたる発育可能な時期の初期の発育段階にあると考えられる。



19. Effective phase of suppression by blue light irradiation in sclerotial formation (terminal type). One hr of blue light irradiation was given at various time during 18 hr dark period following removing cover-glasses, which were mounted for 24 hr.

さらに菌核形成を阻害するのに必要な青色光の照射時間を決定するために、24時間のカバーガラスをマウンティングすることによって菌核原基を誘導し、カバーガラス除去直後の菌核原基に30分から180分の間、青色光を照射した。その結果を図20に示した。30分間照射した場合、ほぼ50%の菌核原基が脱分化した。60分以上の青色光照射では、90%の菌核原基が脱分化し、成熟にいたった菌核原基はわずか10%であった。

このことから、terminal type の菌核形成は菌核原基形成誘導後の一定の時期、すなわち、カバーガラスのマウンティング除去直後に与えられた短時間の青色光照射によって阻害されることが明らかとなり、前章の分生孢子形成の場合と同じように、青色光は菌核形成の発育過程のある一定の発育段階においてのみ作用することが明らかにされた。



20. Duration of blue light irradiation necessary for suppression of sclerotial formation (terminal type).

(iv) 近紫外光による青色光阻害の回復

前述したように、24時間のマウンティングによって誘導された菌核原基は、カバーガラスを除去した後、暗黒に移しても脱分化せず、成熟して菌核へと発育した。しかしながら、マウンティング除去直後に青色光を照射すると、カバーガラスと接触していた菌核の表面から、尖針状の菌糸を多数伸長し、形成誘導された菌核原基は脱分化した。一方、青色光照射の代わりに、BLBを照射した場合、BLB中に青色光波長域が含まれるにもかかわらず、光照射をせずに暗黒に移した菌核原基と同様に脱分化せず、正常な菌核の発育過程は進んだ。この結果から、分生胞子形成過程においてみとめられたのと同じように、青色光照射による阻害作用は近紫外光照射によって打ち消される可能性が十分に考えられた。そこで、青色光照射による阻害作用に対する近紫

外光照射の影響を調べるために、カバーガラスによるマウンティング除去直後に1時間の青色光を照射し、引き続いて、30～180分近紫外光を照射した。その結果、図21に示されるように、60分の青色光を照射すると、形成誘導された菌核の85%は脱分化したが、この青色光照射直後に30分の近紫外光を照射すると、形成誘導された菌核原基のうち50%が脱分化し、脱分化率は減少した。また、近紫外光を60分照射した場合、脱分化率はさらに減少し、25%を示した。この結果は、青色光照射によって脱分化するはずの菌核原基のうち約70%が近紫外光照射によって回復したことを示す。さらに、近紫外光の照射時間を120分および180分に延長した場合、脱分化率はそれぞれ10%および8%を示し、青色光照射による障害に対する近紫外光照射による回復効果はそれぞれ88%、90%と増加した。このように、本発育型の菌核形成過程における青色光の障害効果は直後に与えられた短時間の近紫外光照射

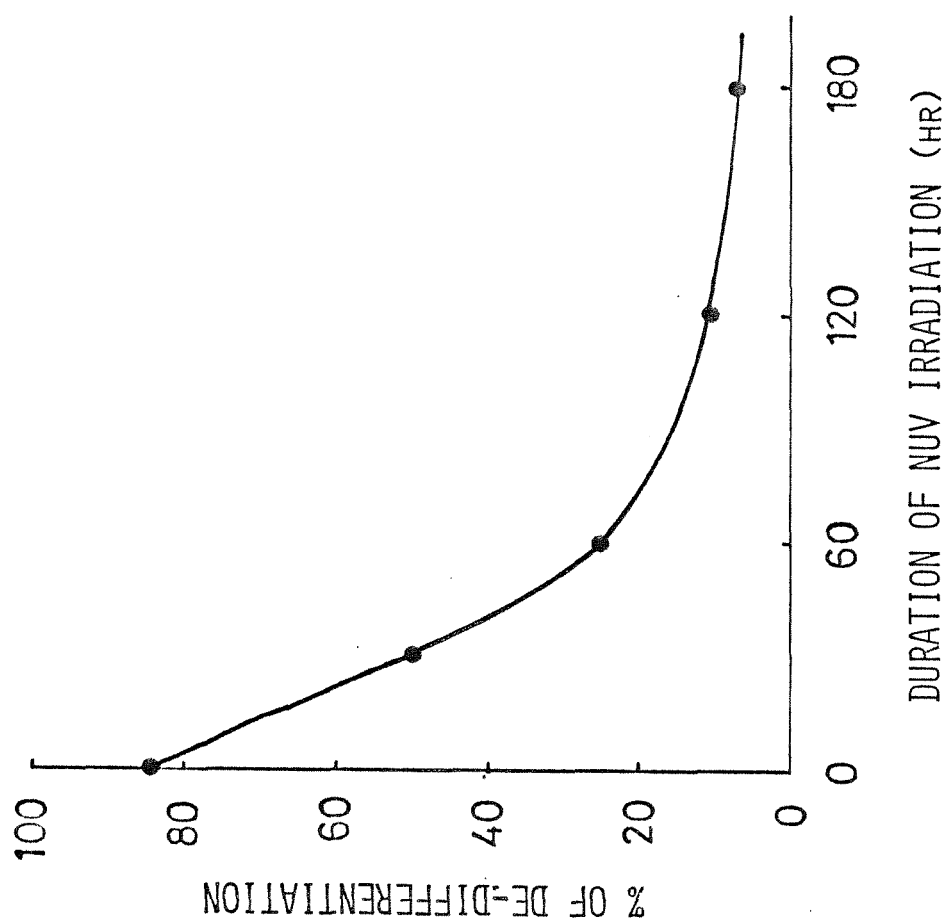


Fig. 2/. Duration of near-UV irradiation necessary to reverse the blue light-induced suppression.

によって回復することが明らかとなったので、さらに、この光阻害相における青色光と近紫外光との交互照射による反復効果について検討した。

まず、24時間のカバーガラスのマウンティングによって菌核原基を誘導した後、カバーガラスを除去し、その直後に60分の青色光を照射し、さらにそれに引き続き60分の近紫外光を照射し、その後再び青色光と近紫外光を60分ずつ交互に照射した。その結果、表5に示されるように、カバーガラスの除去直後に照射した青色光によって、形成誘導された菌核原基の83%は脱分化したが、青色光照射直後に近紫外光を60分照射すると、脱分化した菌核原基は、わずか25%であった。すなわち、カバーガラス除去直後に与えられた青色光照射によって脱分化するはずの菌核原基のうち、約70%が回復した。しかしながら、引き続き、その近紫外光照射直後に青色光を照射した場合、脱分化した菌核原基はわずか24%を示し、

表 5. Production of fertile sclerotia by *B. cinerea* (terminal type) after exposure to blue and near-UV light in sequence.

Irradiation programme	De-differentiation (%)
18 D	14
B	83
B+N	25
B+N+B	24
B+N+B+N	20

D: dark, B: blue light, N: near-UV light.

カバーガラス除去直後に与えられた青色光照射による阻害作用を回復するための近紫外光を照射した場合の脱分化率とほぼ同じであった。すなわち、近紫外光照射によって回復した菌核形成は再び照射された青色光によって阻害されなかった。

これらのことから、本発育型の菌核形成においても分生孢子形成と同じように、菌核形成の発育過程における青色光阻害相において、青色光と近紫外光の光可逆的反応系が存在することが明らかにされた。しかしながら、分生孢子形成過程における分生子柄のある一定の発育段階でみられたような青色光と近紫外光による光可逆的反応の反復性は本発育型の菌核形成ではみとめられなかった。

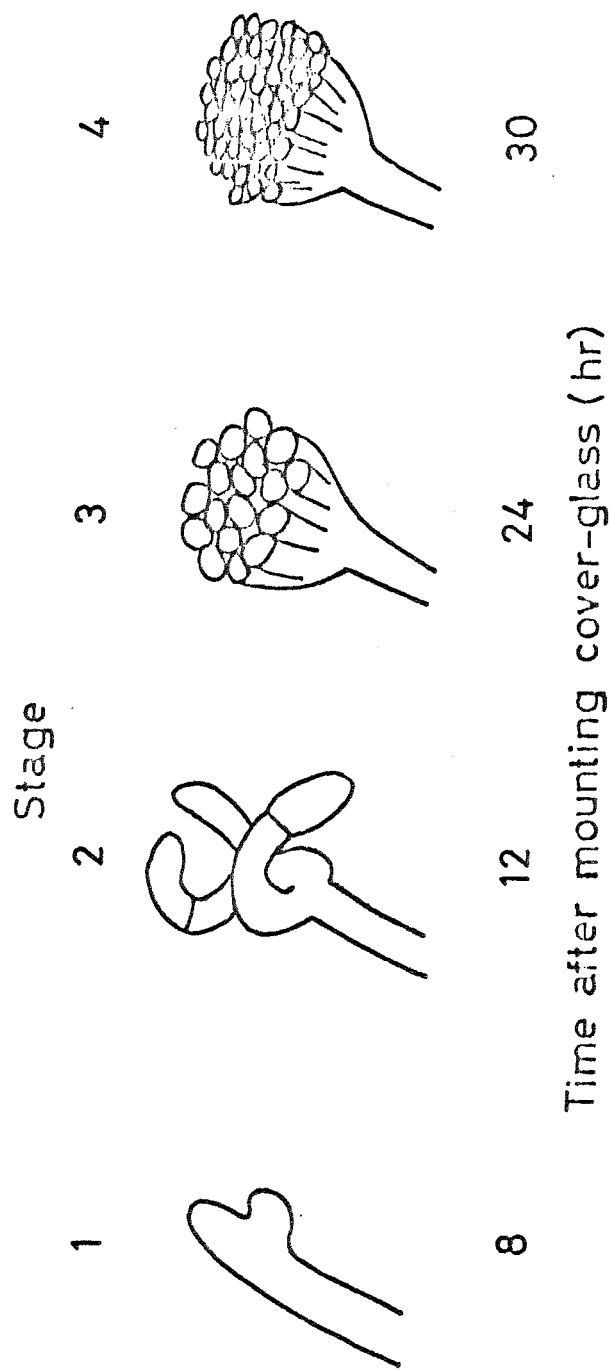
(V) 菌核の発育段階における青色光と近紫外光による光可逆的反応系の所在


前述したように青色光は菌核形成過程のあ

る一定の発育段階において作用し、菌核形成を阻害することが明らかにされた。そこで、この青色光照射は菌核原基形成誘導後における菌核の発育過程のうち、どの発育段階において作用するかを、それぞれの発育段階に対応して60分の青色光を照射することによって、形態的に観察した。図22に示されるように、本発育型の菌核の発育段階は、菌糸の先端の分枝に特徴がみとめられ、規則的な分枝パターンをとり、したがって、次のような4つの発育段階に分けることができる。

Stage 1, (カバーガラスのマウンティング後8時間目), 最初に、栄養菌糸の先端は2つに分枝する。

Stage 2, (カバーガラスのマウンティング後12時間目), 分枝した菌糸に隔膜が形成され、その先端は再び2つに分枝する。このような隔膜形成と分枝を繰り返しながら発育が進行する。しかも、菌糸の先端の分枝は二分裂法をとり、菌糸塊状になる。

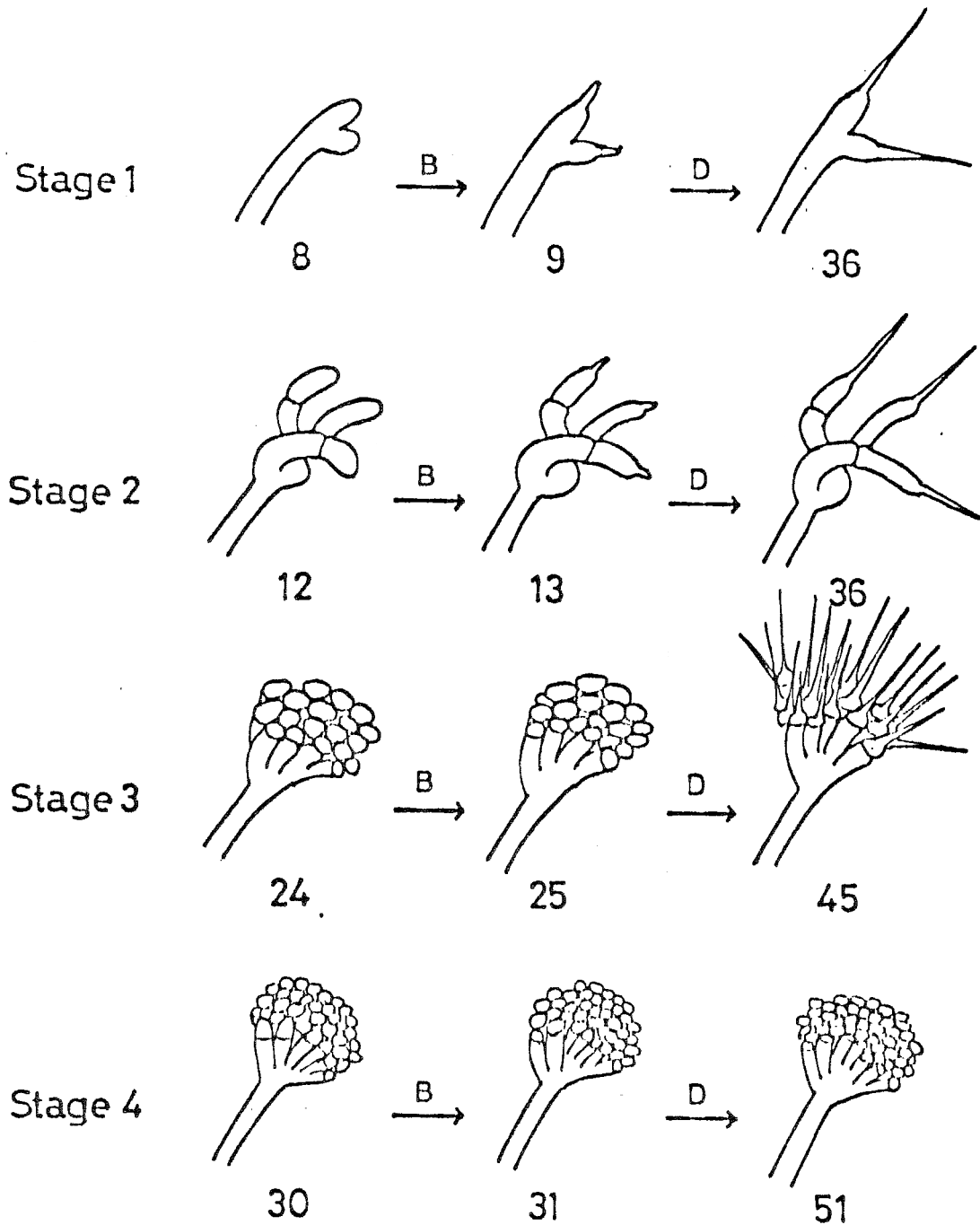


 22. Developmental stages of sclerotium (terminal type). Stage 1, sclerotial initial showing dichotomy of vegetative hyphal tip; Stage 2, dichotomous branching and septation; Stage 3, sclerotial initial showing coalescence of hyphae; Stage 4, mature sclerotium showing darkening of hyphae.

Stage 3. (カバ-ガラスのマウンティング後, 24時間目), 二分裂法によって發育した菌糸はお互いに緊密に絡み合い, 癒着する。菌核表面の菌糸はモザイク状の細胞構造をとる。

Stage 4. (カバ-ガラスのマウンティング後, 20時間目), モザイク状の個々の細胞は褐色に着色し, 隔膜形成と分枝によって, さらに緊密になる。最初のうちは個々の細胞は, まだ識別できるが, 黒色になるにつれ不明瞭になる。

カバ-ガラスのマウンティングによって菌核原基を誘導し, それぞれの發育段階に達したとき, カバ-ガラスを除去し, それぞれの發育段階に対応して, 除去直後に青色光を照射した。その結果, 図23に要約したように, stage 1と2において, カバ-ガラスを除去した場合においては, 一旦形成誘導された菌核原基は光照射処理をしない暗黒下でも分枝した菌糸の先端から尖針状の菌糸を伸長して脱



Time after mounting cover-glass (hr)

☒ 23. Sterile sclerotial initials de-differentiated by blue light irradiation at various stages of sclerotial development (terminal type). B: blue light, D: dark.

分化した。しかし、これらの発育段階の菌核原基にカバーガラス除去直後、青色光を照射した場合においては、一旦誘導された菌糸の先端は暗黒下のものより、比較的長く伸長し、菌核原基は脱分化した。stage 3 でカバーガラスを除去した場合においては、カバーガラスを除去しても、その後の連続暗期中に形成誘導された菌核原基は脱分化せず、分枝を繰り返えし、成熟した菌核へと発育進化した。しかしながら、この発育段階の菌核原基に、カバーガラス除去直後青色光を照射すると、菌核原基表面の個々の細胞は青色光照射終了後数時間で尖針状に膨張し、青色光照射終了後20時間後には尖針状の菌糸を多数伸長して脱分化し、その後の菌核形成過程は阻害された。

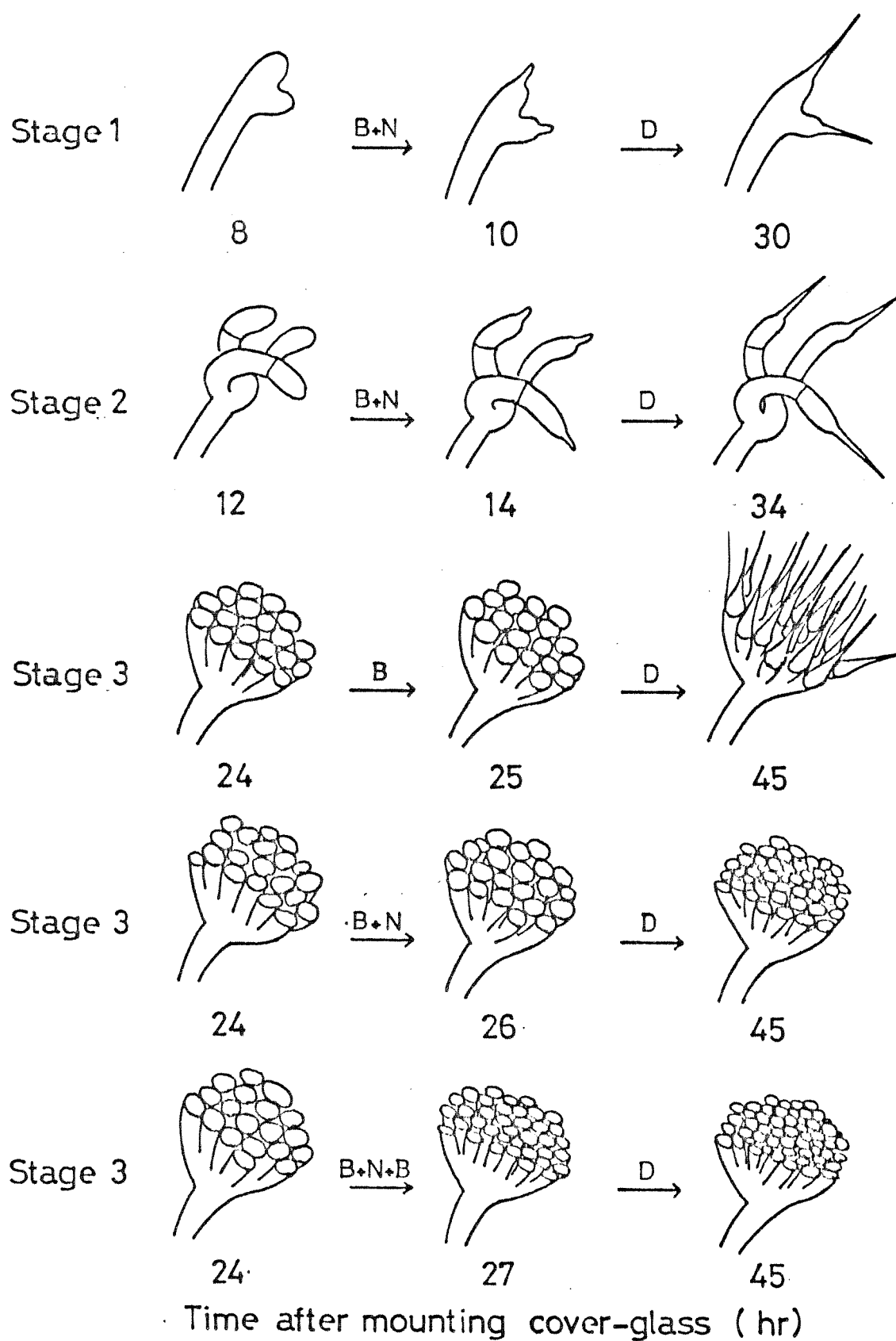
さらに、stage 4 でカバーガラスを除去してもstage 3 と同じように暗黒下では形成誘導された菌核原基は脱分化せず、黒色の成熟した菌核へと発育進化した。この発育段階にカバーガラス除去直後、青色光を照射しても、青

色光による菌核形成の阻害効果はもはやめとめられず、青色光照射終了20時間目には、菌核原基は黒色を呈して成熟した。

このように、菌核形成の初期段階、すなわち、stage 1と2では、カバーガラスを除去することのみによって、暗期中においても脱分化し、栄養菌糸状になるが、stage 3では、カバーガラスの除去後、暗期中に放置しても脱分化することなく、stage 4の初期まで発育が進行するが、カバーガラス除去直後に短時間の青色光を照射すると、菌核形成は阻害された。したがって、本発育型の菌核形成においても、分生胞子形成の場合と同じように、菌核形成過程のある一定の発育段階が青色光によって阻害されることが明らかとなった。

前述したように、菌核形成はカバーガラスによる24時間のマウンティングを除去した直後において、青色光と近紫外光による光可逆的反応系が関与していることが示された。そこで、菌核形成過程におけるどの発育段階に

青色光と近紫外光の光可逆的反応系が関与するかを調べるため、stage 1 から 3 の任意に標識した菌核原基に青色光と近紫外光を 60 分ずつ交互に照射し、その後の菌核形成過程を顕微鏡を用いて形態的に追跡した。その結果、図 24 に要約してあるように、stage 1 に青色光を照射した場合、菌核原基は栄養菌糸状に脱分化した。次いで、青色光照射直後に近紫外光を照射した場合、近紫外光を照射されない場合と同じように、栄養菌糸状に脱分化し、両条件下での菌核の発育過程には顕著な差はみとめられなかった。stage 2 の場合も同様な結果であった。しかしながら、stage 3 に青色光を照射した場合、カバーガラスに接していた菌核表面の個々の細胞は、青色光照射後、数時間で尖針状に膨長し、20 時間後には細長い針状の菌糸を伸長して脱分化したが、青色光照射直後に近紫外光を照射すると、菌核表面の個々の細胞は針状に伸長する代りに、さらに緊密な構造をとって分枝し、菌核の発



24. Diagram showing the blue light and near-UV reversible photoreaction at various stages in the development of the sclerotial initial.

育進行がみられた。さらに、近紫外光照射に引き続き青色光を照射した場合、青色光照射による菌核形成の脱分化作用は菌核表面のいずれの細胞でもみとめられなかった。

これらのことから、分生胞子形成の場合と同じように、terminal typeの菌核形成においても菌核形成過程のある一定の発育段階に、すなわち、stage 3において青色光と近紫外光の光可逆的反応系が関与していることが明らかとなった。しかし、分生胞子形成の場合には、青色光と近紫外光の光可逆的反応性は何回でも繰り返えしか可能であったが、本発育型の菌核形成では、反復的反応性はみとめられなかった。

2 Lateral type の菌核形成過程における温度および光の役割

Botrytis cinerea は, terminal type の菌核のみを形成する菌種であるとされてきた。前章において明らかにしてきたように, terminal type の菌核は, カバーガラスなどに菌糸を一定期間接触させておくことによって容易に菌核原基形成は誘導され, その後, 菌核の成熟にいたる発育過程には青色光と近紫外光による光可逆的反応系が関与し, その光制御系が菌核形成に重要な役割を果たしている。

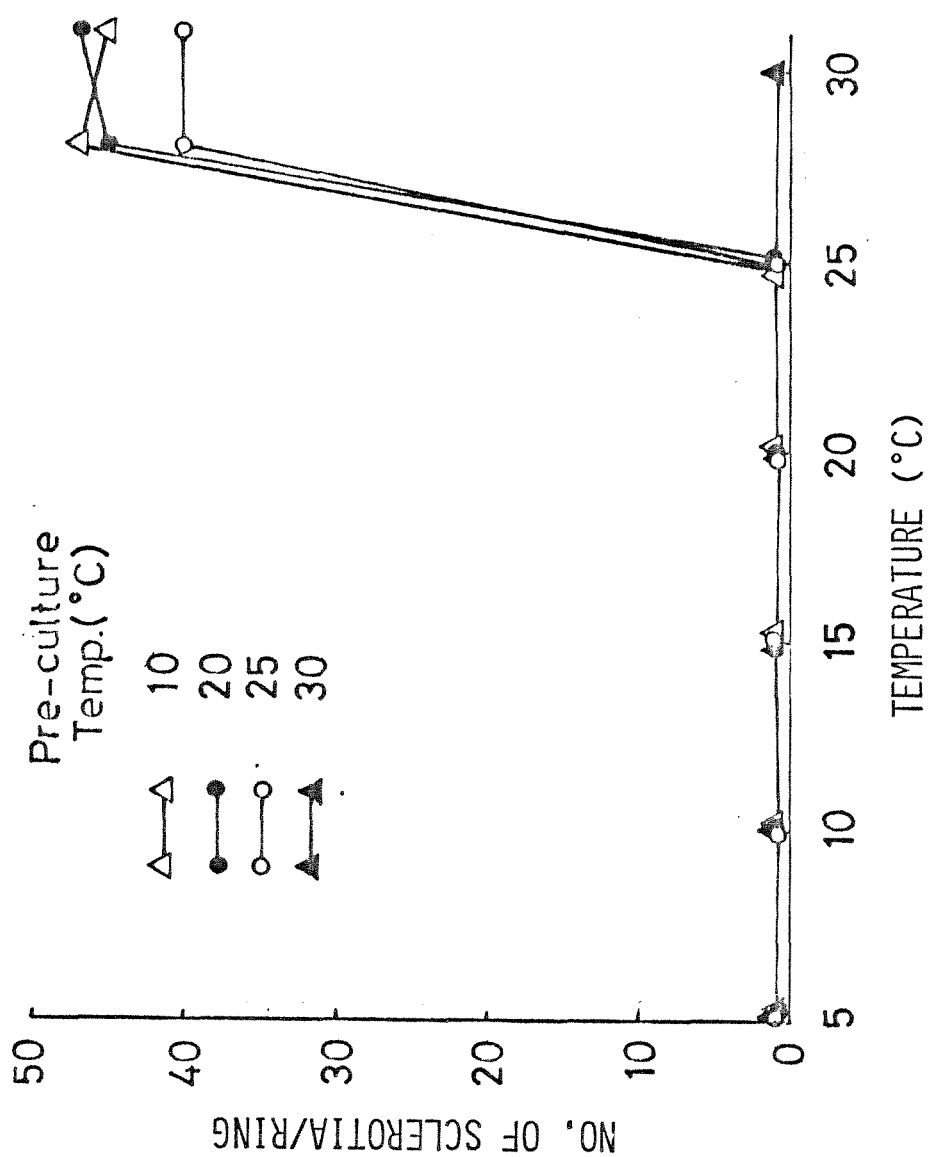
本章では, 本菌が lateral type の菌核をも形成しうることを明らかにし, その菌核原基形成誘導条件およびその後の発育過程における種々の環境条件, 特に温度および光の役割について明らかにする。

(1) Lateral type の菌核原基形成誘導における温度条件について

本菌の分生子柄形成誘導における近紫外光照射の効果を検討した際に、高温下で近紫外光を照射した後、引き続いて 20°C の暗期中で培養すると、光照射時の菌叢先端近傍に、照射終了後12時間目に分生孢子帯の形成が起り、さらに、168時間目には菌核の形成帯がみとめられた。近紫外光を照射せずに、一定期間高温暗期の下においた後、引き続いて 20°C 暗期中で培養すると高温培養開始時の菌叢先端近傍に菌核のみの形成帯がみとめられ、分生孢子形成帯はみとめられなかった。このことから、菌核原基形成誘導には、菌叢を一定期間高温下におくことが重要な役割を果しているものと予想された。

そこで、菌核原基形成誘導におよぼす温度の影響を調べるため、暗期中、10、20、25あ

よび 30°C の各温度下で3日間、前培養した菌叢を 5°C から 30°C の種々の温度の下で24時間培養（ここでは特に中間培養と記す）した後さらに、引き続いて 20°C の暗期で7日間培養し、菌核形成を調査した。その結果、図25に示されるように、前培養と中間培養との温度較差には関係なく、例えば、前培養を 10°C で行なった後、 5 、 10 、 15 、 20 および 25°C の各温度に移した場合には、菌叢はシャーレ全面に広がり、シャーレ壁と菌叢との接触部位にのみシャーレ壁に沿って菌核形成がみとめられた。しかし、 10°C から 28°C （あるいは 30°C ）に移した培養では、菌核形成は高温培養開始時の菌叢先端近傍にのみみられた。前培養温度が 25°C の場合においても、引き続いて 28°C （または 30°C ）に移すことにより、高温培養開始時の菌叢先端近傍に菌核形成がみられた。しかし、 30°C の前培養の後、 5 、 10 、 15 、 20 、 25 、 28 および 30°C の各温度に移したとき、菌核形成は全くみられなかった。なお、 28°C



25. Effect of temperature on induction of sclerotial initials (lateral type). After pre-culture at various temp. for 3 days, culture were kept under the various temp. for 24 hr.

(あるいは30℃)の培養期間、菌叢の生育はほとんどみられなかった。したがって、このような条件下でみとめられた菌核形成は菌叢の生育温度と関連するものと考えられる。

そこで、まず、各温度下における菌叢の生育を調べた。その結果、図26に示されるように、菌叢の生育は20℃から25℃において好適であった。また、15℃の低温でも菌叢の生育は比較的良好であったが、5℃では著るしく低下した。一方、26℃以上の高温の場合、菌叢の生育は急激に低下し、30℃ではほとんど生育がみとめられなかった。この結果から明らかのように、5℃、28℃および30℃の温度下では、著るしく菌叢の生育は低下するが、では、なぜ28℃および30℃の高温域におくことが菌核原基形成誘導に有効なのであろうか。20℃および25℃の暗期で3日間前培養した菌叢を5℃と30℃に移し、その後の菌叢先端近傍の菌糸の生育を顕微鏡下で観察した。5℃に移した場合においては、菌叢先端の菌糸は

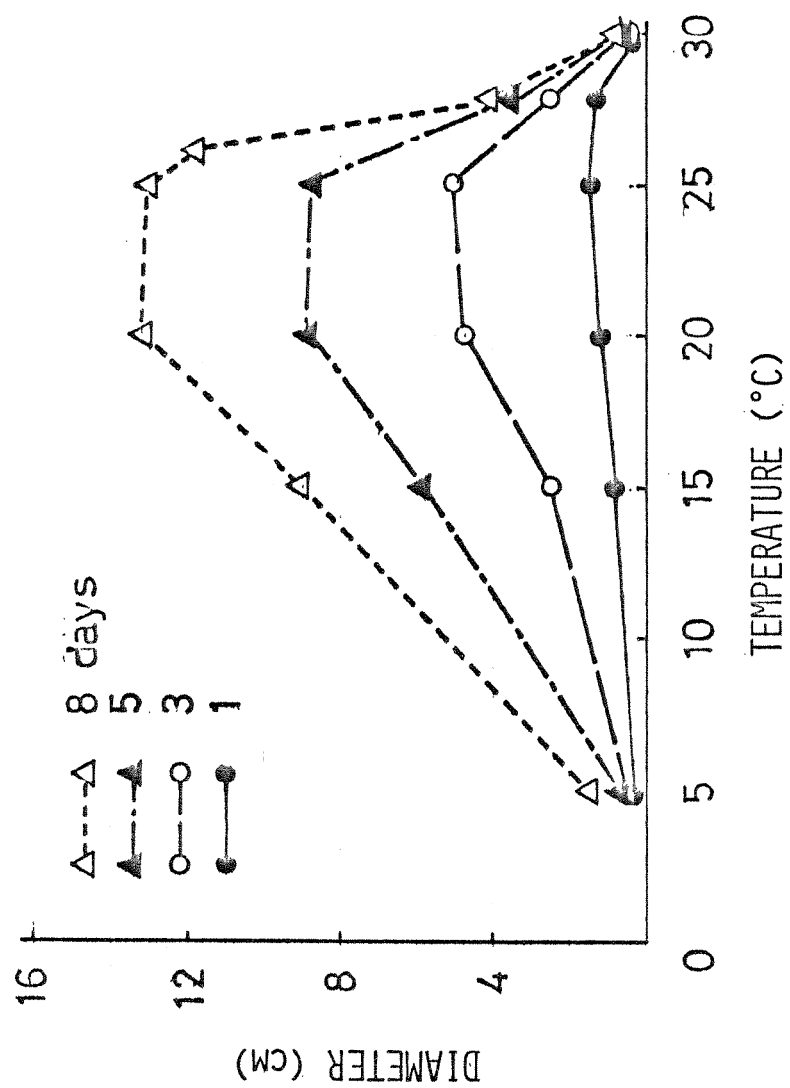


Fig. 26. Effect of temperature on dark growth of *Botrytis cinerea*.

20℃および25℃の連続温度下で培養したときと同じように分枝を繰り返えしたが、30℃に移した場合においては、約18時間後には、菌叢先端の菌糸の分枝は停止し、引き続いて20℃に移すと、20℃に移した後24時間目には再び菌糸の分枝が開始するのがみとめられた。

この事実から、菌核原基形成が高温培養開始時の菌叢先端近傍にみられるのは、旺盛な生育をしている菌糸に対する高温による一時的な障害が影響するものと考えられる。

菌叢を一時的に高温で培養することによって、高温培養開始時における菌叢の先端近傍に菌核の形成帯を作らせることができた。そこで、この菌核形成帯を作らせるために必要な高温培養期間を検討した。

3日間、20℃の暗期で前培養した菌叢を引き続き30℃の高温で0、6、12、16、24および36時間それぞれ培養した後、再び20℃の暗期で7日間培養し、高温培養開始時の菌叢先

端近傍に形成される菌核を観察した。

表 6 に示されているように、12 時間までの高温培養期間では、菌核形成はシャーレ壁と菌叢の接触部にのみみられたが、高温培養開始時の菌叢先端近傍にはみられなかった。また、この部位には、特に菌糸の密な生育がみられ、輪状の菌糸帯を呈していた。一方、16、24 および 36 時間の高温培養期間の場合、高温培養開始時の菌叢先端近傍に菌核の形成帯がみられ、また形成された菌核数は、これらの培養期間でほとんど差がなかった。したがって、以後の実験には、特に記さない限り高温培養の温度は 30°C 、培養期間は 24 時間を用いることにした。

これまでの実験結果では、3 日間 20°C の暗期で前培養した菌叢を用いてきた。そこで、種々の期間前培養して得た菌叢を用いて、前培養の期間が、菌核形成にどのような影響を与えるかを調べた。 20°C の暗期で 2、3、4

表b. Effect of duration of high temp. incubation on sclerotial formation (lateral type).

Time exposed high temp.(h)	0	6	12	16	24	36
Zonation	—	—	—	+	+	+
No. of sclerotia (/schale)	60*	59*	63*	45	53	49

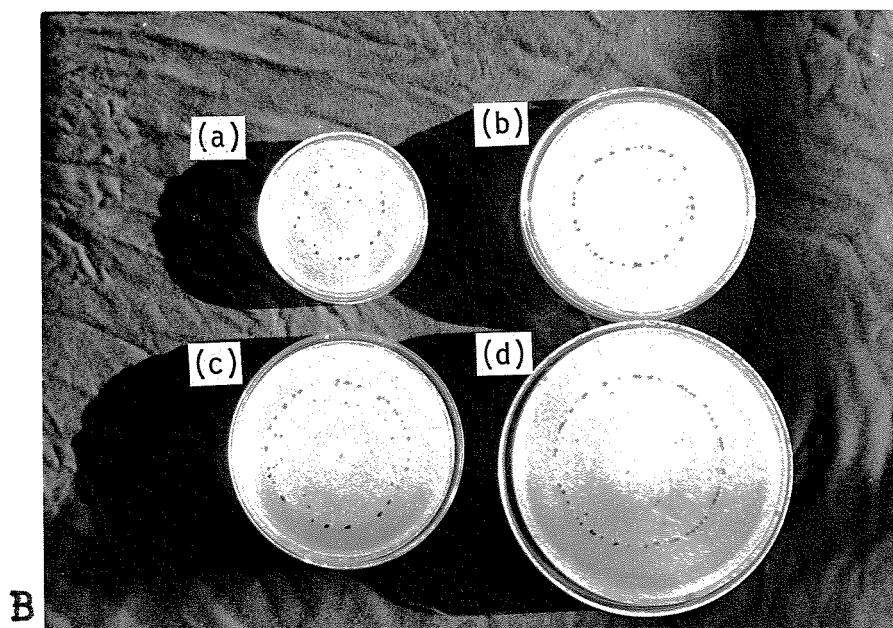
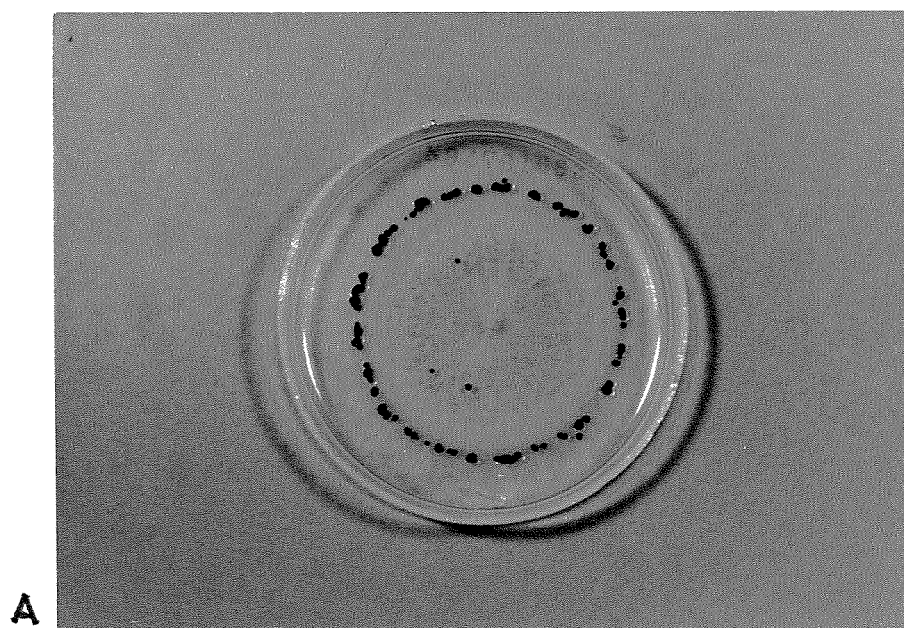
* sclerotia formed near petri dish wall

および5日間前培養した菌叢を30℃で24時間培養した後、再び20℃の暗期で7日間培養し、菌核形成を観察した。その結果、2、3および4日間の前培養の菌叢では、高温培養開始時の菌叢の先端直傍に菌核形成帯がみられた。しかし、5日間前培養した菌叢(9cmシャーレでは、菌叢がシャーレ全面に生育し、シャーレの壁と接触してしまうので12cmシャーレを用いた)では、高温培養開始時の菌叢の先端部ではなく、菌叢先端部より約1.5cm内側に菌核形成帯がみとめられた。一方、高温処理をせずに、20℃の連続温度下で培養した場合においては、9cmシャーレでは、シャーレ壁と菌叢の接触部にシャーレ壁に沿って菌核の形成がみとめられ、12cmシャーレの場合においては、シャーレ壁と菌叢が接触しているにもかかわらず、シャーレ壁より内側、すなわち、菌叢内に、若干散在した状態ではあるが、輪状に菌核形成帯がみられた。この形成部位は5日間前培養後高温培養によって得られた

菌核形成帯とほとんど一致した。

さらに、他のシリーズの実験結果から、連続青色光下で培養した場合には、菌核は形成されない。しかし、5日間青色光下で前培養した後、24時間高温培養を行ない、その後20℃で7日間暗黒培養した場合、5日間暗黒下で前培養し、その後、高温処理した場合とは異なっており、菌核は菌叢内部に形成されることなく、高温培養開始時の菌叢先端近傍にのみ形成された。また、同じような方法で、6日間青色光下で前培養した場合においても、菌核は高温培養開始時の菌叢先端近傍にのみ形成された。

このように、菌核が菌叢の先端部ではなく、菌叢内に形成されるような前培養を行なった場合においても、青色光照射によって菌叢内の菌核形成を抑制すると、その後に行われる高温処理によって、高温培養開始時の菌叢先端近傍にいつでも誘導することが出来る(図27)。以後の実験には、前培養に青色光を

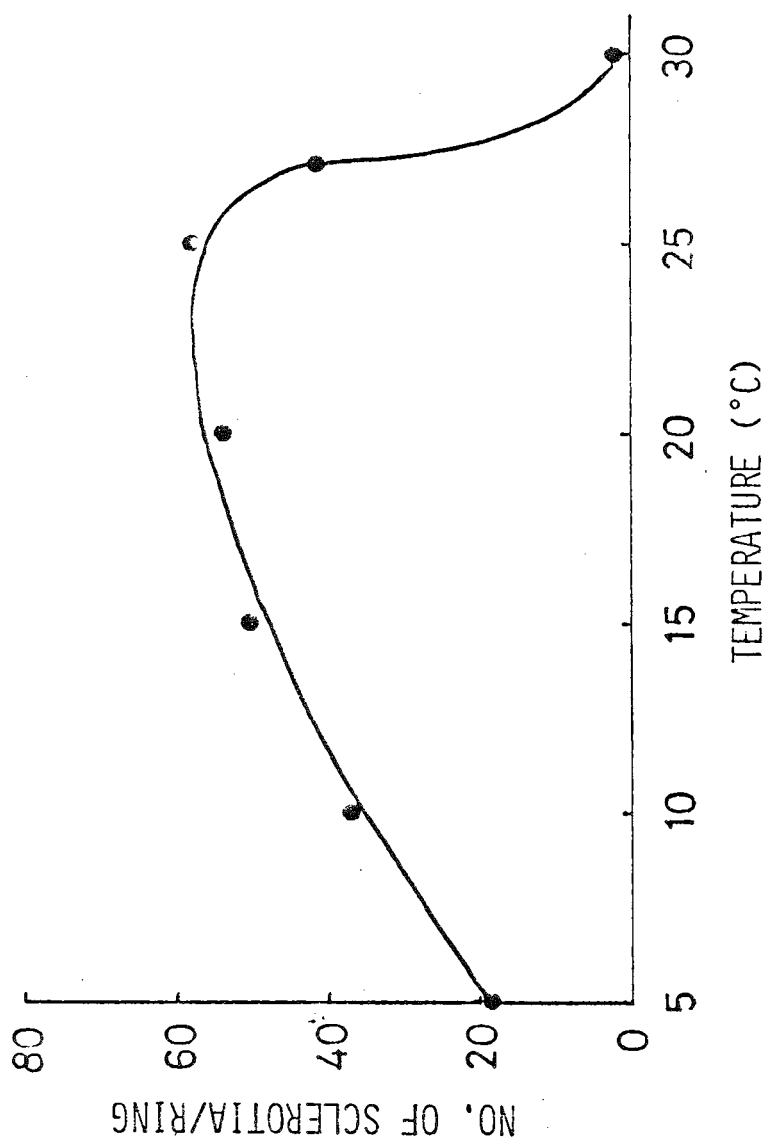


27. Effect of temporal high temp. treatment on sclerotial formation (lateral type). A. Culture was treated at 30 °C for 24 hr after the preculture 3 days in darkness. B. Cultures were treated at 30 °C for 24 hr after various lengths of precultures; (a): 3 days, (b): 4 days, (c): 5 days, (d): 6 days.

照射しなくても、菌叢先端近傍に菌核形成を誘導できる培養条件として、「3日間、 20°C の前培養」を用いることにした。

(ii) Lateral type の菌核原基形成後の発育過程における温度条件について

これまでの実験においては、高温培養後 20°C の低温に移すことによって菌核の形成過程を検討してきた。菌核原基形成誘導後、菌核の成熟にいたる菌核原基の発育過程における温度の影響を調べるため、 20°C の暗期で3日間前培養した菌叢を 30°C で24時間培養することによって菌核原基の形成を誘導し、その後、5、10、15、20、25、27および 30°C の各温度の暗期で8日間培養した。図28に示されているように、菌核原基形成は、 5°C から 27°C の各温度でみられた。 5°C と 10°C で培養した場合、白色の菌糸塊として、まだ未成熟ではあるが、菌核の形成が観察され、3〜5日後に



28. Effect of temperature on sclerotial formation (lateral type).

は、黒色の成熟した菌核に発育した。15℃から25℃の各温度で培養した場合、いずれの温度でも菌核原基形成誘導後の菌核原基の発育は良好で、黒色の成熟した菌核へと発育した。一方、27℃で培養した場合、菌核原基は形成されたが、ある発育段階（後に述べるstage 4）で発育進行が停止したままであった。しかも、この発育段階における菌核原基は異常形態を呈していた（図29, 矢印）。また、30℃で培養した場合、菌核原基の形成は全くみられなかった。

これらのことから、菌核原基形成誘導後の菌核原基の発育には、15℃から25℃の温度が好適であり、30℃は菌核形成を阻害することが明らかとなった。

(iii) Lateral typeの菌核形成過程における光の影響とその有効波長域

次いで、菌核形成過程における光の影響を

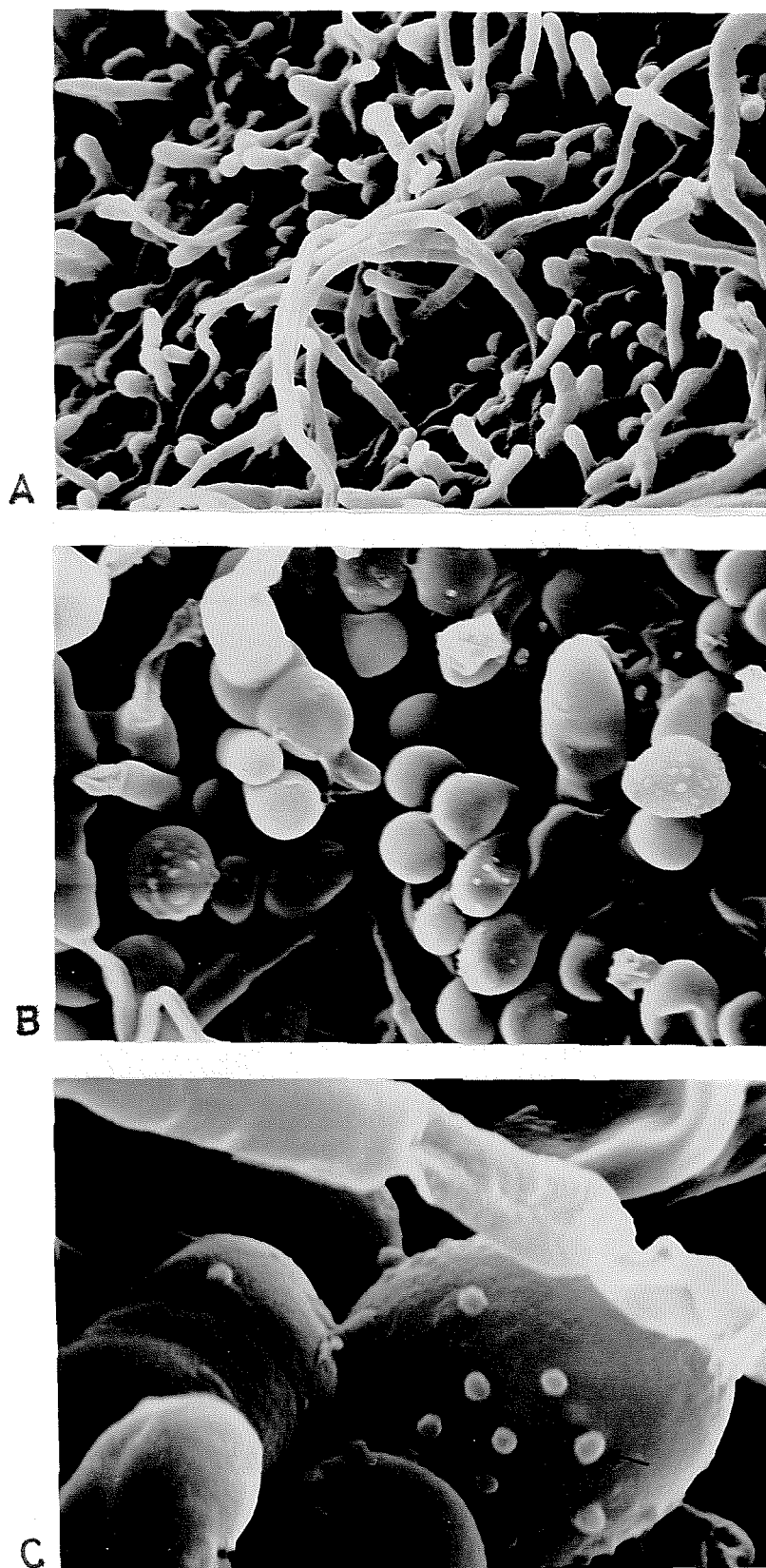


图 29. Effect of temperature on sclerotial development (lateral type). A, normal development (stage 4). B and C, abnormal development (stage 4); note abnormal projection over swelled club-like hypha (arrowed).

調べるため、 30°C 、24時間の高温培養による菌核原基形成誘導後、引き続き 20°C の低温下で表々に示すような種々の波長域の光を連続照射し、低温培養開始後168時間目に形成した菌核数を計数した。その結果、緑色光、黄色光、赤色光および遠赤色光は菌核形成に対してほとんど影響せず、菌核数は暗期で培養した対照とほとんど同じであった。一方、BLB、近紫外光、白色光および青色光は菌核形成に影響し、これらの波長域光の連続照射下では菌核形成は全くみとめられず、BLB、近紫外光および白色光の照射の場合には、分生孢子形成のみみられた。しかし、青色光照射の場合、菌核も分生孢子も全く形成されなかった。したがって、本発育型の菌核形成は、青色光および近紫外光によって阻害されることが示唆された。

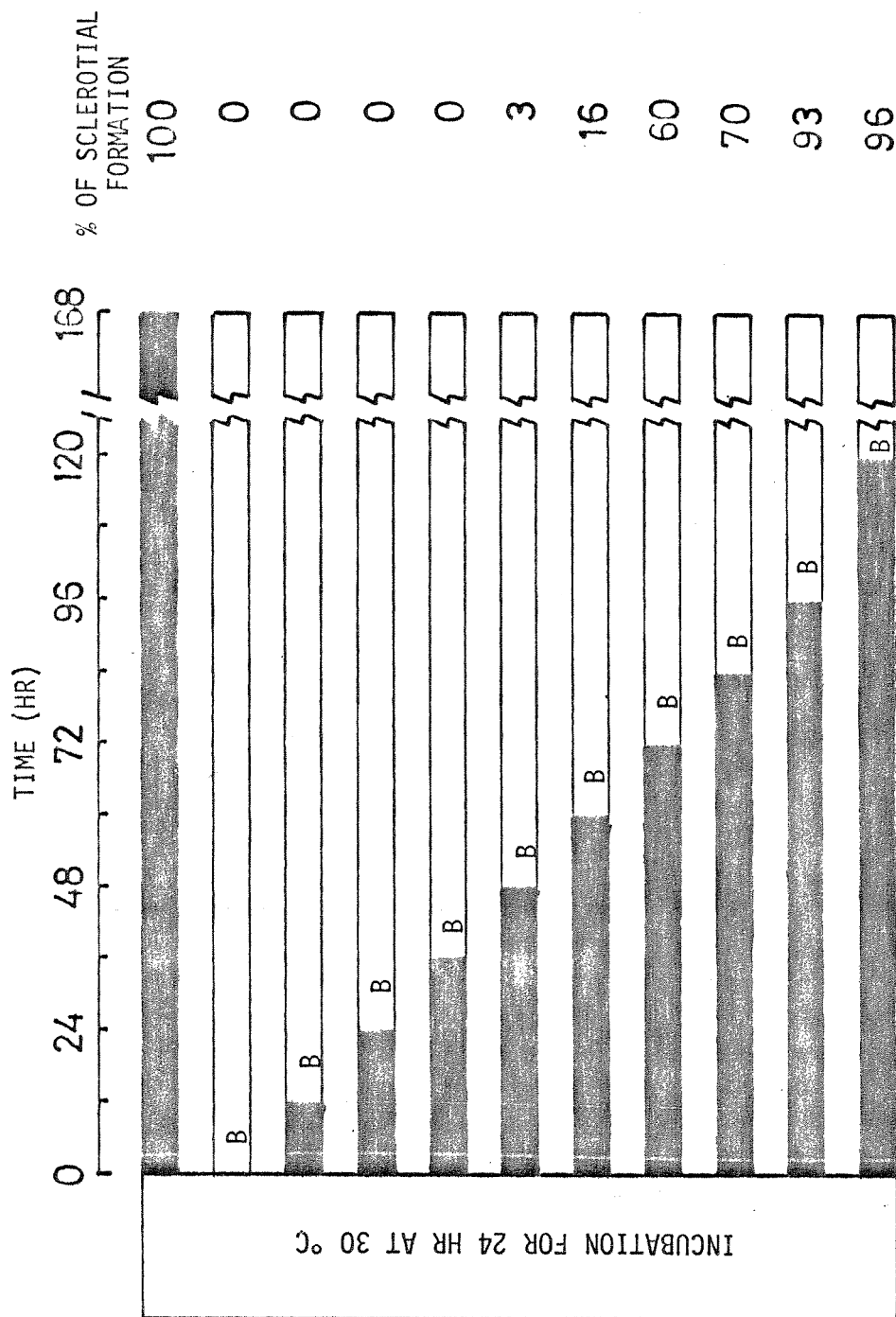
表7. Effect of light quality on sclerotal formation (lateral type).

Light quality	Irradiance (erg.cm ⁻² .sec ⁻¹)	No of sclerotia/ring
BLB	3000	0
NUV	500	0
White	2800	0
Blue	1500	0
Green	2500	49
Yellow	2000	52
Red	2000	53
Far-red	2400	60
Dark	-	54

(iv) Lateral typeの菌核形成過程におよぼす 青色光の作用

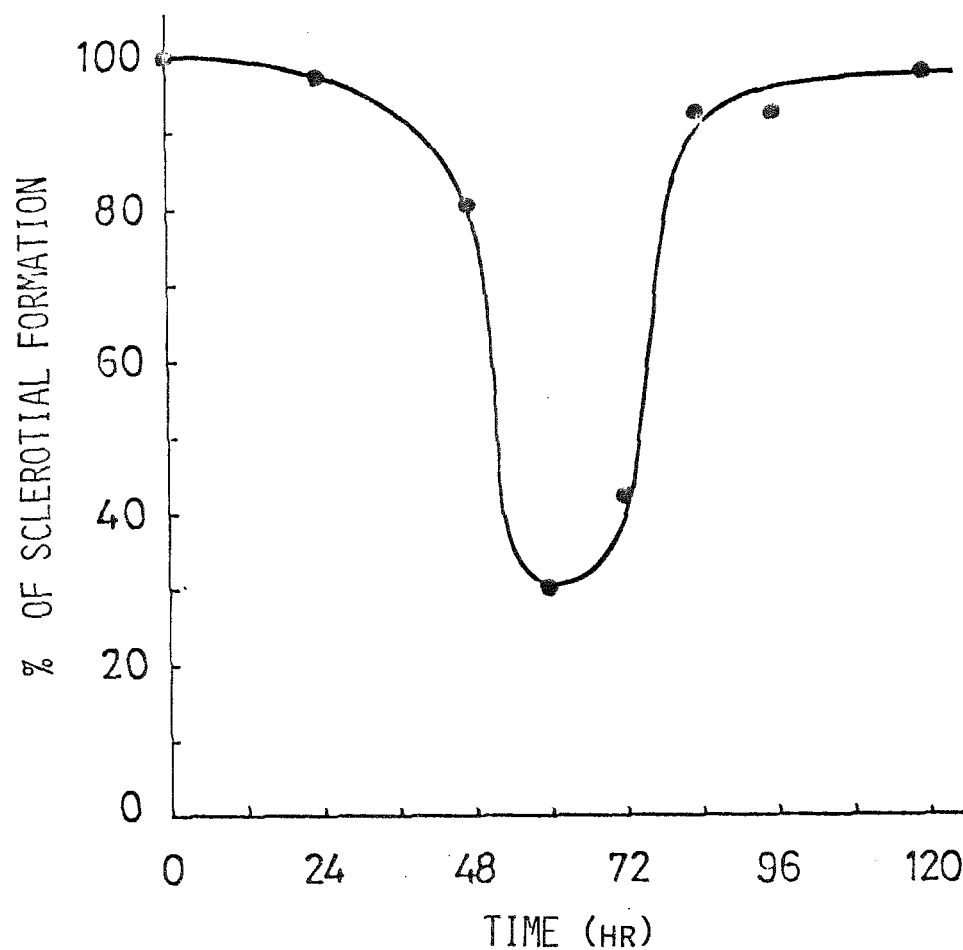
前述の実験で、菌核原基形成誘導後の菌核形成過程には、青色光照射による阻害作用が存在することが示された。この節では、菌核形成過程におけるいずれの発育段階に青色光が作用するかを明らかにするために、その前段階として、青色光阻害相、青色光照射期間について検討した。

高温培養による菌核原基形成誘導後、20℃の低温で青色光を連続照射すると、菌核形成は著るしく阻害される。菌核形成過程における青色光の作用時期を決定するため、図30に示されるように、まず、高温培養後、低温に移した菌叢に、0、12、24、36、48、60、72、84、96、120および168時間の種々の長さの暗期を挿入し、その後引き続き青色光を連続照射した。菌核形成は低温培養開始後168時間目



30. Duration of darkness necessary to recover from blue light-induced suppression.

に、形成された菌核数を計数することによって判定した。その結果を図30に示した。低温培養開始後、0から60時間までの間の長さの暗期を挿入した後、青色光を照射すると、連続暗期の対照区に比して、0から16%の菌核形成がみとめられた。暗期を72時間与え、青色光を照射した場合には、菌核形成率は60%であった。その後、暗期の長さが増長されるにしたがって菌核形成率は増加した。これらの結果から、菌核形成過程における青色光の阻害作用は低温培養開始後72時間以内の発育段階において最も強く作用するものと推定された。そこで、この阻害相をより詳細に検討するため、低温培養開始後、120時間の暗期中に12時間ずつの青色光中断を行なった。図31に示されるように、低温培養開始後、24時間目および48時間目の暗期に青色光を照射すると、菌核形成率は、それぞれ98%、80%を示し、菌核形成はほとんど阻害されなかった。しかし、60時間目と72時間目に青色光を照射



⊗ 31. Effective phase of suppression by blue light irradiation in the sclerotial formation of *Botrytis cinerea* (lateral type). Twelve hr of blue light irradiation was given at various times.

した場合には、菌核形成率は、それより30%、42%を示し、60~70%の菌核形成が青色光によって阻害された。72時間以降の暗期を経過した後に青色光を照射しても菌核形成の阻害はもはやみられず、例えば、低温培養開始後84時間目の暗期に青色光を照射すると、93%の菌核形成率を示した。

この結果から、菌核形成は、菌核形成過程の一定の時期に、すなわち、低温培養開始後60時間目の発育段階において青色光照射による阻害相があることが明らかとなった。

さらに菌核形成の阻害相における青色光の照射時間を決定するために、低温培養開始後60時間目に青色光を、0、4、8、12、20、24および36時間の種々の照射期間を照射した。図32に示されたように、青色光を4時間照射した場合には、菌核形成率は93%でほとんど菌核形成の阻害がみられなかった。しかし、8~12時間照射すると、菌核形成率は30~40

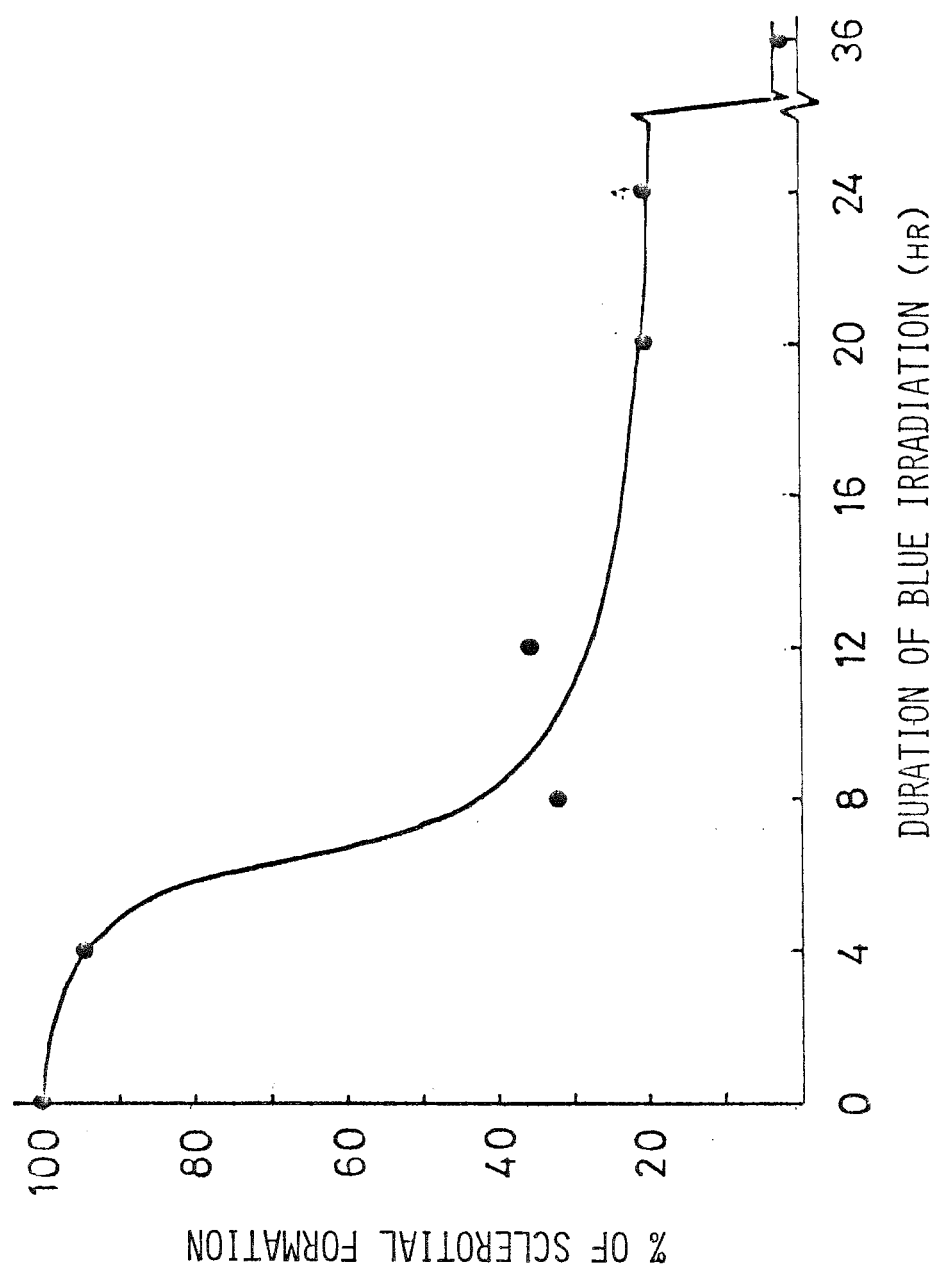


圖32. Effect of duration of blue light irradiation on sclerotal formation (lateral type). Blue light was given 60 hr after transferring to 20 °C from 30 °C.

%に低下し、すなわち、60%~70%の菌核形成阻害率を示した。さらに青色光の照射期間を延長することによって菌核形成率は低下し、青色光を36時間照射すると、菌核形成はほとんどみうれなかった。

これらの結果から、lateral type における菌核形成は菌核形成過程のある一定の発育段階が、青色光の照射によって阻害されることか示された。

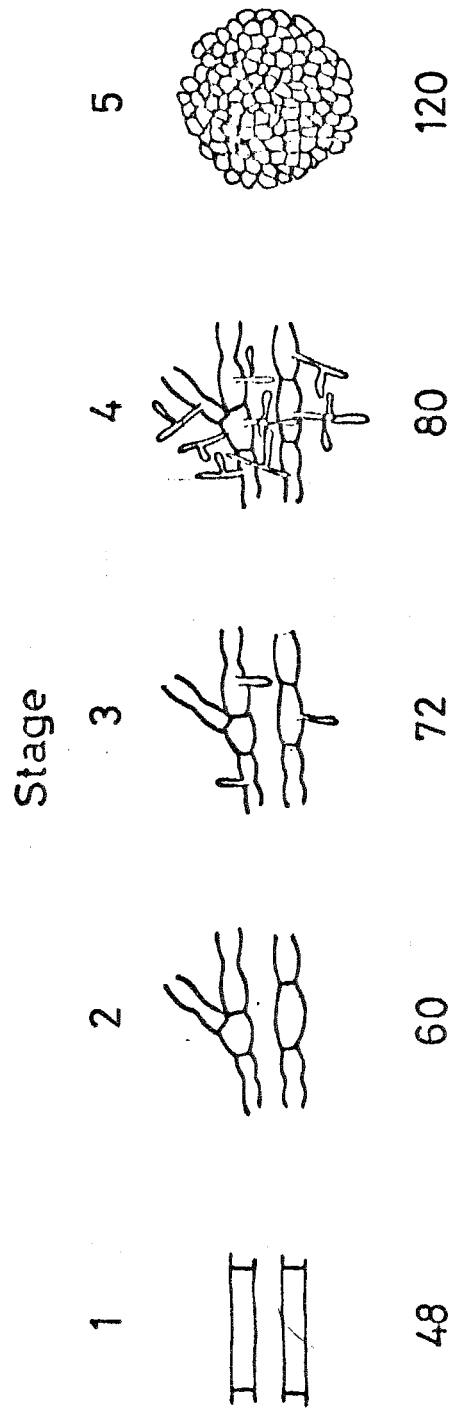
(Ⅳ) Lateral type の菌核形成の発育段階における青色光の作用部位

一般に、菌核は分生子柄形成の場合と同じように栄養菌糸から分化し、分枝した多数の菌糸の絡み合いによって形成される。しかし、菌核形成における発育過程は単に栄養菌糸から分枝した菌糸の絡み合いによってのみ進行するのではなく、隔膜形成と分枝を活発に繰り返えしながら進行する。本発育型の菌核の

場合、栄養菌糸を一時的に30℃の高温下で培養することによって菌叢の先端近傍に菌核を誘導することができる。

これまでの実験結果から、本発育型の菌核形成は、高温培養による菌核原基形成誘導後それに引き続く低温培養開始後約60時間目に与えられた青色光照射によって阻害されることが明らかとなり、菌核形成過程において、青色光が阻害的に作用する特定の発育段階があることが示唆された。そこで、菌核原基形成誘導後における菌核形成過程の中、どの発育段階が青色光照射によって影響されるのかを形態的に追跡するため、高温培養による菌核原基形成誘導後の低温培養開始後、菌核の発育段階に対応して、任意に標識した一つの菌核原基を選択し、12時間の青色光を照射し、顕微鏡観察を行なった。

Lateral type の菌核形成の発育過程は、図33に示されるように、5つの発育段階に分けることができる。



Time after the transfer from high temp. to low temp. (h)

33. Developmental stages of sclerotia of lateral type. Stage 1, main hypha; Stage 2, swelled hypha and septation; Stage 3, club-like hypha blown out from swelled hypha; Stage 4, branching of club-like hypha; Stage 5, mature sclerotium formed rind cells.

Stage 1, (低温培養開始後48時間目), 通常の栄養菌糸とはっきり識別できる比較的大く, 隔膜数の多い菌糸が形成される (main hypha 形成期)。

Stage 2, (低温培養開始後60時間目), より一層, 隔膜形成が活発に行なわれ, main hyphaはコブ状の菌糸に発育する。

Stage 3, (低温培養開始後72時間目), コブ状の菌糸から, 栄養菌糸とはっきり識別できる棍棒状菌糸が分枝する。この菌糸は通常にみられる栄養菌糸より細く (直径 $3\mu\text{m}$), 短い。また, その先端は丸味を持っている。

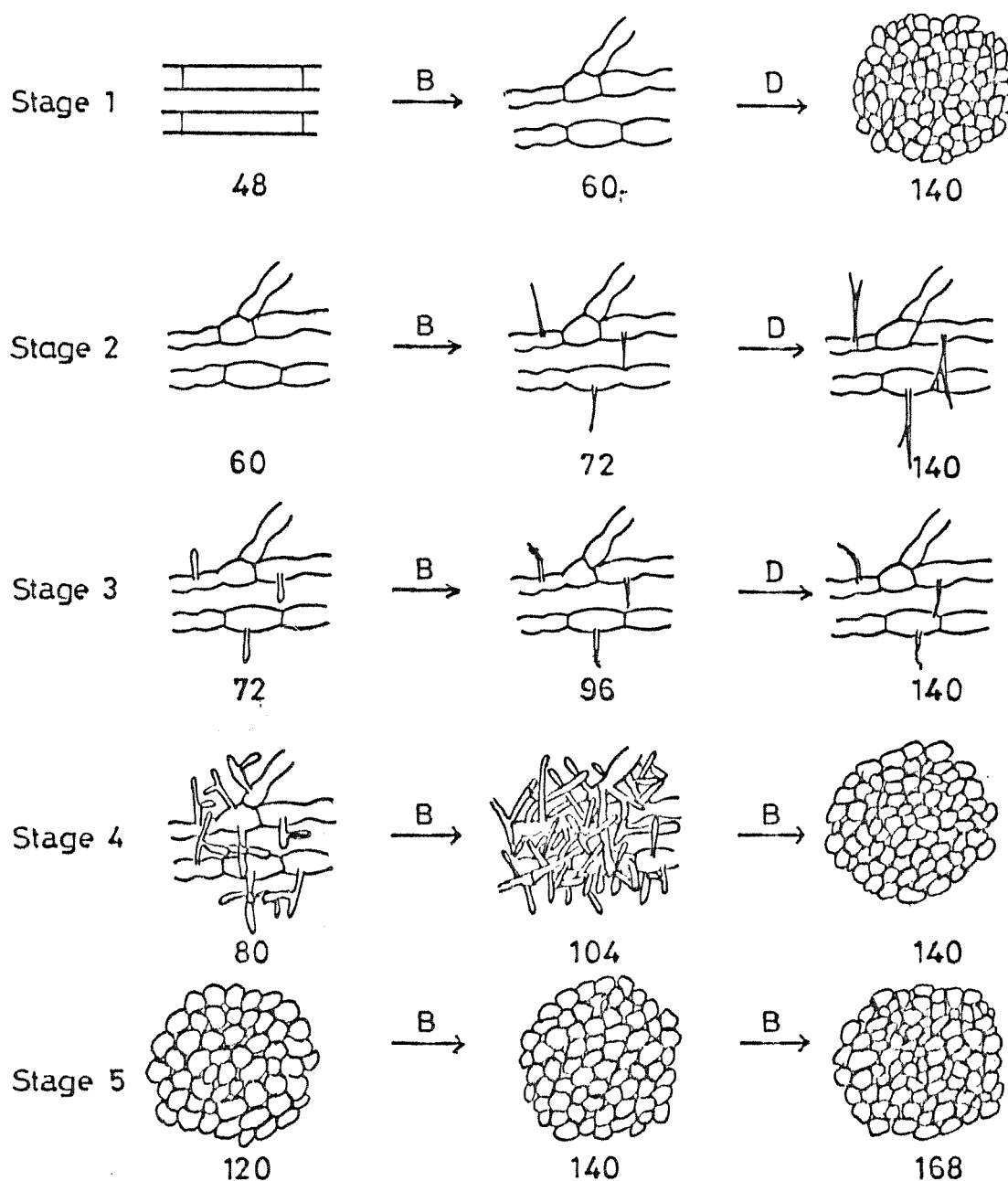
Stage 4, (低温培養開始後80時間目), 棍棒状菌糸は伸長と分枝を繰り返えし, やがて光沢を帯びた白色の菌糸塊に発育するが, この時期では, まだ菌糸としての識別は可能である。

Stage 5, (低温培養開始後120時間目), 白色の菌糸塊は着色を始め, 菌糸塊の表面は, あたかも卵を敷詰めたような外部形態を呈し

(rind cell 形成期), 約140時間目には黒色の成熟した菌糸塊となる。この時期では、外部および内部構造は形態的に菌糸としての識別は全く困難である。

これらの発育段階に対応して12時間の青色光を照射した結果、図34に示されるように、隔膜形成の盛んなmain hypha 形成期、すなわちstage 1において青色光を照射しても、青色光による阻害効果はみられず、棍棒状菌糸の形成期を経て、正常の発育過程を経過し、140時間目には成熟した黒色の菌核が形成された。

しかし、次の発育段階であるコブ状菌糸の形成期、すなわち、stage 2に青色光を照射すると、コブ状菌糸の各細胞は青色光照射終了後12時間後には尖針状の菌糸を伸長して脱分化し、その後の菌核形成過程は阻害された。さらに、stage 3の棍棒状菌糸の形成期に任意に標識した一つの棍棒状菌糸に12時間の青色光を照射した場合には、12時間の青色光照射直後でもその菌糸は脱分化することなく、その



Time after the transfer from high temp. to low temp. (hr)

- ☒ 34. Sterile sclerotial initials de-differentiated by blue light irradiation at various stages of sclerotial development (lateral type).
B: blue light, D: dark.

後の暗期中で正常に菌核形成がみられた。この時期において青色光照射時間を16、20、24および36時間と延長すると、16および20時間の照射期間でも、棍棒状菌糸は脱分化することなく、12時間照射の場合と同じようにその後の暗期中で正常に菌核形成がみられた。ところが、24時間青色光を照射したところ、照射終了直後の棍棒状菌糸の先端は収縮し、棍棒状菌糸の分枝はみられず脱分化し、その後、暗期中に移しても菌核形成はみられなかった。stage 4 および 5 では、12時間青色光照射はもちろん、連続照射下においても菌核形成は全く阻害されず成熟した菌核へと発育分化した。これらの結果から、菌核形成は菌核形成過程の stage 2 から 3 にある発育段階において青色光の照射によって阻害されることが明らかとなった。しかも、青色光は菌核形成過程の前段階である「菌核原基形成過程」の菌糸分枝、すなわちコブ状菌糸から棍棒状菌糸の分枝および棍棒状菌糸の第1次分枝に作用する

ことが明らかとなった。

(vi) Lateral type の菌核形成におよぼす近紫外光の作用および青色光による阻害作用に対する近紫外光の役割

前述したように、Lateral type の菌核は、近紫外光およびBLBの連続照射下では形成されず、菌叢先端近傍に少量の分生孢子形成がみられた。BLBの連続照射下において菌核形成がみとめられなかった理由として、次の3つの可能性が考えられる。

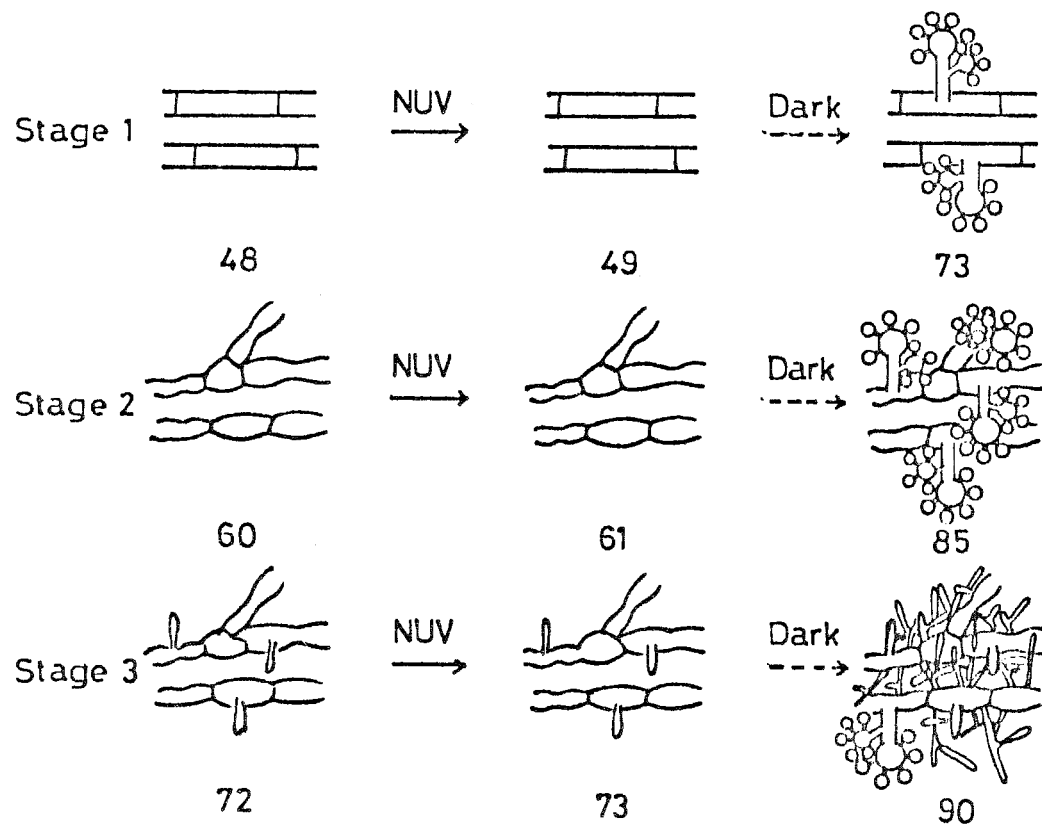
1), 分生孢子形成過程において指摘されたように、青色域光と近紫外域光が分化の方向性に対して相反する方向に拮抗的に作用するため、菌核原基形成の誘導後、ある一定の発育段階で菌核原基の発育は停止し、その後の成熟過程が抑制される。

2), BLB中に含まれる青色域光によって菌核形成は阻害され、菌核原基は脱分化する。

3), BLB 中に含まれる近紫外域光によって菌核原基形成は抑制されるか, または誘導されても菌核原基上に分生子柄が形成されることによって, その後の菌核の発育が抑制される。

以上の観点に基づいて, 分生胞子形成過程においてみとめられた青色光照射による阻害効果を打ち消す近紫外光が菌核形成においても作用するの否かについて検討した。

前項の実験と同じように, 図33で示した stage 1 から5までの菌核の発育段階に, 1時間の近紫外光または1時間のBLBを照射した。その結果, 図35に示されたように, stage 1 および2の菌核原基に近紫外光またはBLBを照射すると, 照射後24時間目にはすでに形成誘導された菌核原基の main hypha の上に分生子柄の形成がみとめられた。その後与えられた暗期中に, stage 1 および2のいずれにおいても新たな菌核原基の main hypha, コブ状菌糸からの棍棒状菌糸の形成はみとめられず, また,



Time after the transfer from high temp. to low temp.(h)

☒ 35. Sclerotial initials de-differentiated by near-UV irradiation at various stages of sclerotial development (lateral type).

青色光照射時にみられた栄養菌糸の発育もみられず、分生胞子形成のみがみとめられ、菌核形成は阻害された。stage 3 に近紫外光を照射した場合も同いように分生子柄は誘導されたが、その数は少なく、棍棒状菌糸形成の方が優位に進行し、分生子柄を抱え込んだまま菌核形成が行なわれた。stage 4 に近紫外光を照射した場合には、菌核原基上のいずれの部位にも分生子柄は誘導されず、菌核原基の発育は進行した。また、この発育段階では、近紫外光または BLB を長時間連続照射しても、その影響を受けず、菌核原基は成熟した菌核へと正常に発育進行した。stage 5 に照射した場合にも、stage 4 と同いように、近紫外光および BLB の影響を受けず、正常な菌核形成がみられた。

さらに、stage 2 および 3 において青色光の照射は菌核形成を阻害するが、その直後に近紫外光を照射しても、青色光照射による菌核形成の阻害作用は打ち消されなかった。

これらの結果から、lateral type の菌核形成過程においては、青色光と近紫外光による拮抗作用はみとめられなかった。菌核形成過程の初期段階 (stage 1 ~ 2) にある菌核原基に近紫外光を照射すると、菌核原基上にも分生子柄形成が優位に進行し、その結果、菌核形成過程は阻害されるものと考えられる。

(VII) 小 括

Townsend と Willetts (1954 年)⁽⁶⁹⁾ は、「菌核は初期発育過程の形態的差異によって loose type, terminal type および lateral type の3つの発育型に分類することができ、菌核を形成する多くの菌類はこのいずれかに属し、*Botrytis cinerea* は terminal type に属する」ことを示した。しかしながら、これまで述べてきたように、環境要因を制御することによって、terminal type はもちろん、本菌においては形成されないと言われてきた lateral type の菌核をも自由に形成させ得ることを明らかにした。す

なれち、terminal type は 20°C の暗黒下で培養した栄養菌糸の先端にカバーガラスをマウンティングすることによる物理的接触刺激によって、その先端に菌核の原基を誘導することができる。一方、lateral type は、 20°C の暗黒下で3日間前培養した菌叢を 30°C の高温下で24時間培養し、その後引き続き 20°C の暗黒で培養すると、高温培養開始時の菌糸の先端近傍に輪状に菌核の原基が誘導され、約140時間後には、黒色の成熟した菌核が形成される。この場合の菌核原基形成は、 20°C の前培養から 30°C の高温培養への移行処理、すなわち、 10°C の温度較差が主原因となって誘導されるのではなく、前培養温度が菌糸の生育に好適であるならば ($5\sim 25^{\circ}\text{C}$ の温度範囲)、それに引き続いて、菌糸の生育には不適な温度、 30°C で16時間以上培養することによる一時的な障害を与えることによって誘導されるものと考えられる。また、この lateral type の菌核は、接種後、菌糸の生育に好適な温度である

25℃以下の連続温度の下で暗黒培養すると、9cmシャーレでは、シャーレ壁と菌叢の接触部にシャーレ壁に沿って菌核の形成がみられる。一方、12cmシャーレの場合には、9cmシャーレの場合とは異なっており、シャーレ壁と菌叢が接触しているにもかかわらず、シャーレ壁より1.5cm内側、すなわち菌叢内に若干散在した状態ではあるが、輪状に菌核形成帯がみとめられる。この場合の菌核形成には、菌叢の齢に関連する別の因子が菌核形成の誘導に働いている可能性が考えられる。逸見⁽²⁴⁾(1931)は菌核形成は温度を急速に一時的に上げることによって促進されることの可能性を示し、菌核形成における温度条件の影響の重要性を指摘している。これらの条件は、*Aspergillus flavus* のように必ずしもあてはまらない例もあるが、一般に、菌核形成は菌糸の生育に最適、あるいはそれ以下の温度が好適であるといわれている。^(13,62) 本菌の菌核形成においても、比較的低温下で良好であり、lateral type にお

ける菌核原基形成誘導後の発育過程は菌糸の生育の場合と同じ温度下で良好である。また、terminal type においては、菌核原基はいずれの温度でも誘導されるが、その後の発育過程は低温下で良好である。

菌核を形成する数種の菌類の菌核形成の誘導およびその後の発育過程には光が有効的に作用する可能性が示されている。^(10,23,30,62) 一方、Kaiser⁽³²⁾ と Brandt⁽³⁾ (1962) は、青色光が *Verticillium albo-atrum* の菌核形成を阻害することを見い出し、また、Leach⁽³⁷⁾ (1962) は近紫外光は菌核形成の初期過程における細胞の増大に阻害的に作用することを報告しているが、いずれの場合も、菌核の形態形成過程における光の役割についての詳細は全く不明である。

本研究に用いた *Botrytis cinerea* の菌核形成における原基形成の誘導には光は関与せず、lateral type の菌核原基形成は菌叢を一時的に高温で培養することによって、高温培養開始時

の菌叢先端近傍に誘導され、また、terminal type では、光とは無関係に栄養菌糸の先端をカバーガラスでマウンティングすることによる物理的接触刺激によって誘導される。しかしながら、両発育型とも、菌核原基形成誘導後の菌核形成過程におけるある一定の発育段階に光が関与することが明らかにされた。すなわち、terminal type の菌核形成においては、その発育段階は stage 1 から stage 4 の 4 つに分けられ、stage 1 と 2 では、カバーガラスを除去することのみによって、暗期中においても脱分化し、栄養菌糸になる。しかし、stage 3 では、カバーガラスの除去後、暗期中においても脱分化することなく stage 4 の初期まで発育が進行するが、カバーガラス除去直後に短時間の青色光を照射すると、菌核原基表面にみられるモザイク状の個々のいずれの細胞も数時間で尖針状に膨張し、やがて細長い菌糸を伸長して脱分化する。また、この青色光の阻害効果は青色光照射直後に与えられた近紫

外光照射によって打ち消され、菌核原基表面の個々の細胞は針状に伸長する代わりに、さらに緊密な構造をとって分枝し、成熟した菌核へと発育する。したがって、分生胞子形成の場合と同じように、terminal typeの菌核形成においても菌核形成過程のある一定の発育段階に、すなわち、stage 3において、青色光と近紫外光による光可逆的反応系が関与していることが明らかとなった。

また、lateral typeの菌核形成においては、発育段階はstage 1からstage 5まで分けられ、青色光はstage 2と3に阻害的に作用し、コブ状菌糸からの棍棒状菌糸の分枝および棍棒状菌糸の才一次分枝が阻害される。すなわち、stage 2に青色光を照射すると、棍棒状菌糸の形成はみられず、細長い栄養菌糸が伸長し、その後の菌核形成は阻害される。また、stage 3に青色光を照射すると、棍棒状菌糸の才一次分枝が阻害され、菌核形成は阻害される。さらに、stage 1と2に近紫外光を照射すると、

菌核原基の main hypha およびコブ状菌糸に分生子柄が誘導され、菌核原基上での分生孢子形成によって菌核形成は阻害される。また、stage 3 に近紫外光を照射すると、同じように分生子柄は誘導されるが、その数は少なく、棍棒状菌糸の形成の方が優位に進行し、分生子柄を抱え込んだまま、菌核形成が行なわれる。stage 4 および 5 に近紫外光を照射した場合においては、菌核原基表面上のいずれの部位にも分生子柄は誘導されず、正常な菌核形成がみられる。さらに、stage 2 および 3 において照射された青色光の阻害効果は青色光照射直後に与えられた近紫外光によっても打ち消されない。

したがって、一定の発育段階において青色光が阻害するという点で分生孢子形成および terminal type の菌核形成と同じように、lateral type の菌核形成過程においても、菌核形成過程のある特定の発育段階で、青色光は菌核原基を栄養生長へと脱分化させる。また、

近紫外光は青色光による阻害に対する拮抗作用とは無関係に菌核原基上に分生子柄形成を優位に進行させることによって菌核形成過程を阻害することが明らかとなった。

VI 総 合 討 論

灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* は、イチゴ、キュウリなどの各種野菜類および花卉類を侵かす多犯性の植物病原菌で、無性生殖器官として、分生胞子のほか、菌核をも形成する。本菌は代表的な空気伝染性病原菌であり、主として、分生胞子の分散によって病原体が拡散される。また、分生胞子および菌核の形成機構は種々多様の環境因子によって影響され、生活様式も複雑で、本菌による病害の防除はさきわめて困難なのが現状である。しかし、そのような病害を防除する最も根本的、かつ経済的な方法の一つとして、病原菌の生理的分化および病原菌の生活史を明らかにすることによって、自然界における病原菌の生活環を解明し、その伝染鎖を効果的に断ち切るなど、人工的に病害を防除することの可能性を追求することは、植物病理学上、さらに菌類における形態形成の研究にも大いに貢献するもの

と考えられる。

1) *Botrytis cinerea* の分生胞子形成に 対する光の役割

Botrytis cinerea は、連続暗黒下では栄養菌糸のみの生長を行なう。暗黒下で培養した菌叢に近紫外光を照射すると、光照射時の菌叢の周辺部に輪状に分生子柄の形成が誘導され、引き続いて暗黒下におくと、分生胞子が形成される。また、近紫外光照射による分生子柄形成誘導後の暗黒中に青色光を照射すると、分生胞子形成は阻害され、誘導された分生子柄は尖針状の細長い気中菌糸に脱分化する。しかし、この青色光による阻害効果は青色光照射直後に与えられた近紫外光照射によって打ち消され、再び分生胞子の形成がみとめられるようになる。しかも、この相対する二つの光の効果は繰り返えしか可能で相互に可逆的であり、その生理的效果は最終的に与えら

れた光の質によって決定される。このように、本菌の分生孢子形成過程には、少なくとも二つの発育相、すなわち、近紫外光照射による分生孢子形成誘導のための発育相と、分生子柄形成誘導後、暗黒下で分生孢子形成が進行する発育相が存在し、しかも、分生子柄形成誘導後の発育相には青色光と近紫外光による光可逆的反応系、すなわち、マイコクローム系が関与し、分化の方向性を決定する上で重要な役割を果たす。本菌の分生孢子形成過程における青色光と近紫外光による光可逆的反応系は分生子柄形成誘導後の分生孢子形成過程のある特定の発育段階においてのみ作用する。本菌の分生子柄の発育過程は形態的に明らかに異なる6つの発育段階に区別され、stage 2 から stage 5、すなわち、成熟した分生子柄形成期から分生孢子始原体形成期に短時間の青色光を照射すると、形成誘導された分生子柄は尖針状の細長い気中菌糸へと伸長し、分生孢子的形成は阻害される。しかしながら、こ

の青色光照射直後に短時間の近紫外光を照射すると、青色光照射による阻害効果は打ち消され、形成誘導された分生子柄は脱分化することなく、正常な分生胞子形成がみとめられた。とくに、青色光照射による胞子形成阻害効果を打ち消すための近紫外光照射は他の菌系から新たに分生子柄の形成および胞子形成を誘導するために作用しているのではなく、青色光が作用するのと全く同一の発育段階において直接分生子柄に作用することが明らかとなった。

2) *Botrytis cinerea* の菌核形成に対する 光の役割

一方、これまで *Botrytis cinerea* においては、terminal type の菌核のみが形成され、lateral type の菌核は形成されないといわれてきたが、両発育型の菌核を自由に形成させうることが明らかとなった。

terminal type の菌核形成については、栄養菌糸の先端をカバーガラスで一定期間マウンティングすることによる物理的接触刺激によって、菌核原基の形成が誘導される。この菌核形成過程は形態的に4つの発育段階に分けることができ、各々の発育段階において、種々の環境要因、とくに光の作用について検討した。菌核原基誘導後の発育過程進行には、25℃以下の低温条件が良好であるか、菌核原基形成誘導後、成熟した菌核形成にいたる発育段階のうち、stage 1 と 2 の発育段階においては、カバーガラスを除去すると、形成誘導された菌核原基は脱分化し、その後の菌核形成過程は進行しなかった。しかし、stage 3 においては、カバーガラスを除去しても脱分化せず、分枝を繰り返えし、成熟した菌核へと発育進行する。しかし、カバーガラス除去直後に青色光を照射すると、菌核原基表面の個々の細胞は尖針状の菌糸を多数伸長し、脱分化する。しかし、青色光照射直後に近紫外光

を照射すると、菌核原基表面の個々の細胞は尖針状に伸長せず、分枝を繰り返えし、緊密な構造をとって、最終的には成熟した菌核へと発育進化した。stage 4では、カバーガラスを除去しても脱分化せず、形成された菌核原基は成熟した菌核へと発育し、この段階においては青色光を照射しても、もはや菌核形成は阻害されない。

このように、短期間のマウンティングの後、カバーガラスを除去すると、形成誘導された菌核原基は脱分化するか、24時間以上マウンティングした後、カバーガラスを除去した場合においては、脱分化することなく正常の菌核形成過程が進行した。

したがって、カバーガラスによる接触刺激は、菌核原基形成誘導期 (stage 1 と 2) と、その後カバーガラスを除去しても脱分化しなくなるまでの一定の菌核原基の成熟過程 (stage 3) に有効に作用する。

しかしながら、カバーガラスを除去しても

脱分化しなくなる発育段階 (stage 3) においては、青色光照射によって、形成誘導された菌核原基は尖針状の細長い菌糸を伸長し、脱分化する。しかも、この青色光照射による菌核形成阻害効果は、青色光照射直後に与えられた近紫外光照射によって打ち消され、菌核形成が再びみとめられるようになる。すなわち、terminal type の菌核形成過程においても、マイコクローム系が関与する可能性が指摘され、分生胞子形成過程におけるマイコクローム系の反応機構と比較検討することは、今後きわめて重要な問題を提起するものと考えられる。

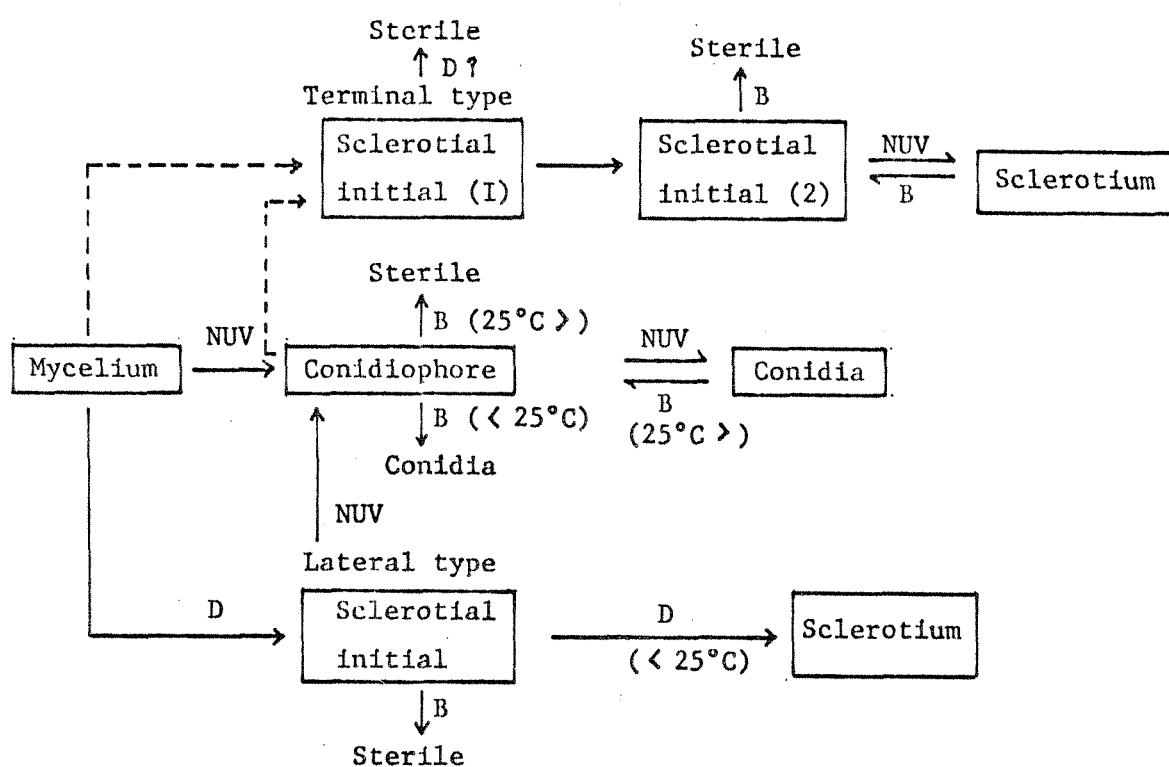
一方 lateral type の菌核形成過程においては、25℃以下の低温条件下で前培養した菌叢を30℃の高温で24時間培養後、引き続いて20℃で培養することによって高温培養開始時の菌叢先端近傍に菌核原基形成が誘導され、その後成熟した菌核原基形成誘導後の発育は25℃以下の低温で良好である。本発育型の菌核形成

過程は形態的に5つの発育段階に分けること
 ができ、菌核形成過程における stage 2 と 3 に
 おいて、青色光を照射すると、コブ状菌糸か
 らの棍棒状菌糸の分枝および棍棒状菌糸から
 の一次分枝は抑制され、形成誘導された菌
 核原基は尖針状の菌糸を伸長して脱分化し、
 その後の菌核形成過程は阻害される。この青
 色光照射による菌核形成の阻害効果は、その
 直後に与えられた近紫外光によって打ち消さ
 れず、また、stage 1 と 2 に近紫外光を照射す
 ると、stage 1 および 2 の main hypha およびコ
 ブ状菌糸上に分生子柄形成が誘導され、その
 後の菌核形成過程は阻害される。stage 3 以後
 の発育段階にある菌核原基は光照射による影
 響をむしろ受けて、正常の菌核形成過程が進
 行する。

このように、lateral type の菌核形成におい
 ても、菌核形成過程におけるある特定の発育
 段階でのみ青色光および近紫外光照射は影響
 する。terminal type の菌核形成は青色光照射

によって阻害され、脱分化するか、青色光による阻害効果は、直後に与えられた近紫外光照射によって回復する。しかしながら、*lateral type*の菌核形成過程においては、青色光の阻害効果は、直後に与えられた近紫外光照射によって回復しない。この場合における近紫外光照射は、形成誘導された菌核原基上に分生子柄形成を誘導し、分生胞子形成過程の方が菌核形成過程よりも優位に進行する結果、その後の菌核形成は阻害されるものと考えられる。しかも、この発育段階にある菌核原基は、近紫外光照射により容易に分生子柄形成が誘導されることから、栄養菌糸と類似した性質を維持しているものと考えられる。

以上に述べてきたように、本菌の無性生殖器官である分生胞子、および*terminal type*の菌核、さらには、これまでに形成されないものとしてきて*lateral type*の菌核の器官形成をも、図36に示されているように、環境要因を制御することによって、栄養生長の方向から



36. Interaction between conidiation and sclerotial formation by light and temperature conditions.

— : dependent on light

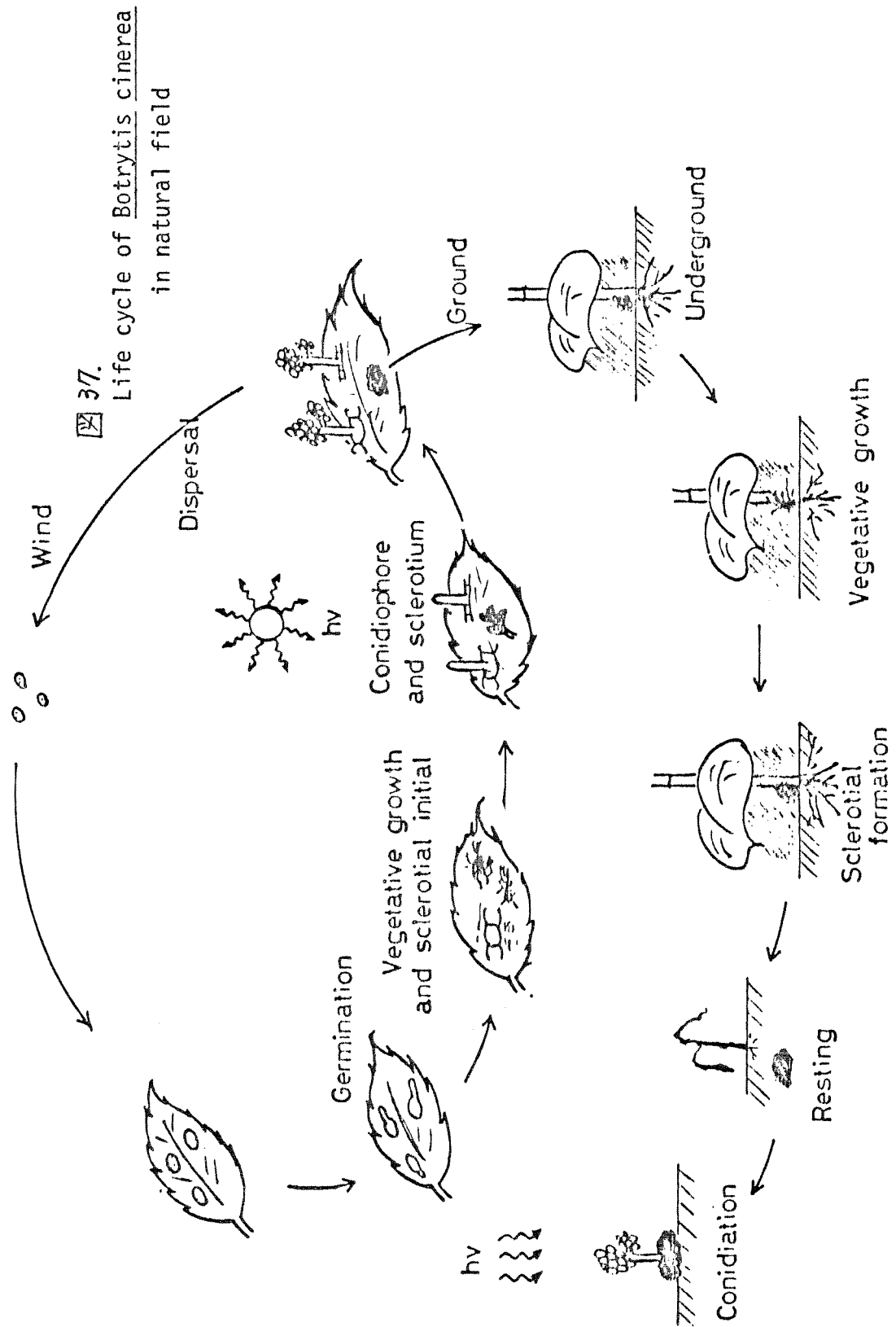
--- : independent on light

D: Dark, B: Blue light, NUV: Near-UV light.

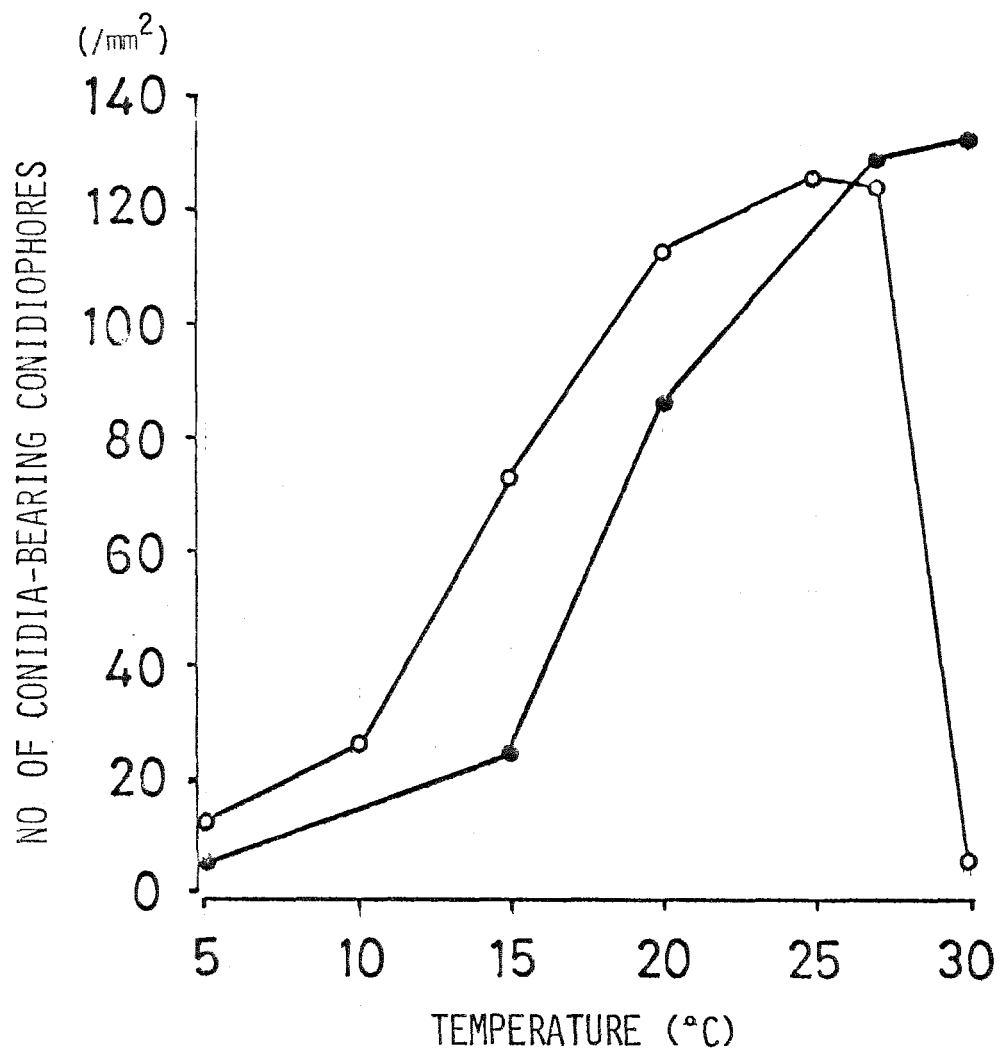
生殖生長の方向へ、あるいは生殖生長の方向から栄養生長の方向へ自由に制御しうることが明らかとなった。

以上に述べてきたような環境生理学的実験結果から、自然界における *B. cinerea* の生活環について、図37に要約されているように考えられる。

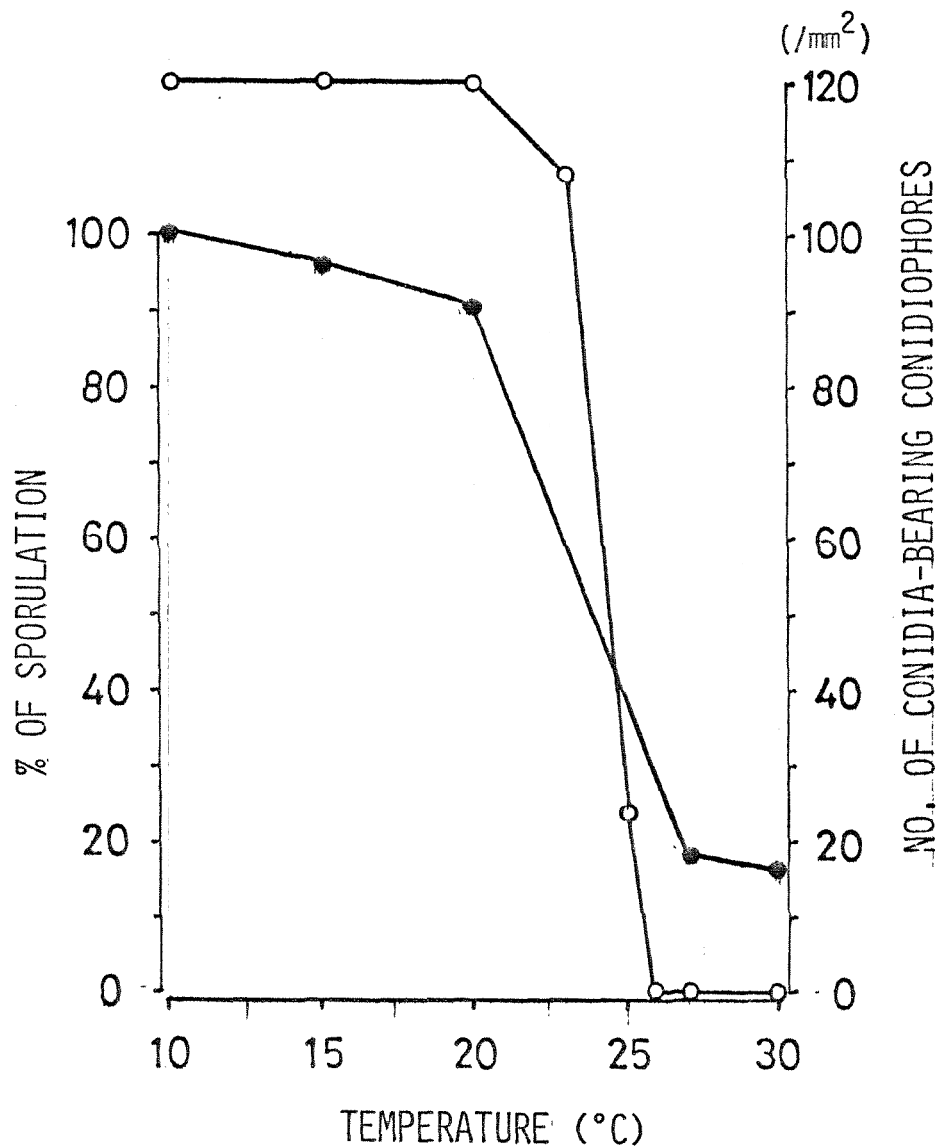
風などによって運ばれ、植物体上に落下した分生胞子は宿主上で発芽した後、付着器を形成し、植物組織内に侵入し定着する。このようにして感染が成立した病原体は、組織内部で、あるいは組織表面で栄養生長を行なう。宿主上で一定の生育を確保した栄養菌糸は、昼間、太陽光にさらされると、太陽光に含まれる近紫外域光によって分生子柄形成が誘導される。しかし、太陽光には近紫外域光のほかに、胞子形成に阻害的に働く青色域光も含まれているので、昼の間は、誘導された分生子柄は発育進行せず、ある一定の分生子柄の



發育段階、すなわち、stage 2 の状態を維持し続ける。夜間になると、昼間に、形成誘導された分生子柄は、その後の發育過程を経て、分生胞子を着生するようになる。図 38 に示されているように、低温条件下でも近紫外光照射により、分生子柄の形成は誘導されるが、その数は $25^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ の高温条件下においてはるかに多い。しかも、分生子柄形成誘導後の胞子形成過程の進行も 25°C 近傍の比較的高温条件下で最大であった。したがって、圃場においても、*B. cinerea* の胞子形成は夏期において最も旺盛であり、この時期に病原体が最も多く拡散されるものと考えられる。また、分生子柄形成誘導後の暗期中における青色光照射による胞子形成阻害効果は温度依存性であり、低温条件下では、胞子形成は青色光照射によりほとんど阻害されないが、 25°C 以上の高温条件下におくと、胞子形成の阻害効果は大となる(図 39)。したがって、*B. cinerea* の病原体の拡散に対する人工防除については、



38. The interacting effect of near-UV and temperature on the sporulation of *B. cinerea*. ●—● : on conidiophore formation; cultures were irradiated to 12 hr BLB at temperature between 5 and 30 °C, then kept under darkness at 26 °C for 24 hr. ○—○ : on conidiation following conidiophore formation; cultures were kept at temperature between 5 and 30 °C under darkness following a 12 hr inductive irradiation with BLB at 26 °C.



39. The interacting effect of blue light and temperature on the sporulation of *Botrytis cinerea*. ●—● : Blue cultures were irradiated with blue light at temperature between 10 and 30 °C. Blue light was given 5 hr after the beginning of darkness. ○—○ : BLB; cultures were irradiated with BLB for 24 hr at temperature between 10 and 30 °C. Conidial development was inhibited by blue region of spectrum included in BLB.

日中、高温が確保される夏期の夜間に青色光を照射することにより、胞子形成を抑制することが有効な一手段として考えられる。

一方、*B. cinerea* の菌核形成は *terminal type* および *lateral type* の両発育型とも、高温よりも比較的低温条件下において活発に起る。このような温度条件は、夏よりもむしろ秋から冬、および冬から春にかけて確保される。しかも、両発育型の菌核形成は、ある一定の発育段階にある菌核原基が青色光照射を受けることによって抑制される。また、*lateral type* の菌核形成においては、菌核形成過程の初期発育段階で近紫外光照射を受けると、菌核原基上に分生子柄の形成が誘導され、その後、分生胞子が形成される結果、菌核形成は阻害されることになる。このように、太陽光は分生胞子形成の誘導には有効的に作用するが、菌核の形成過程においては阻害的に作用するものと考えられる。菌核は比較的長時間の低温暗期の下でよく形成されることから、実際

の圃場においても、菌核の形成は秋から春にかけて、光から遮断された植物組織の中、あるいは土壤中のように限られた環境下で行なわれるものと考えられる。このような環境下で形成された菌核は、土壤中で生存、越冬し、翌春、再び分生子柄形成が誘導され、分生胞子を形成する生活環を営み、このようにして翌年の第一次伝染源が成立されるものと考えられる。

しかし、両発育型の菌核形成は、光の影響を受け、とくに青色光によって抑制されるので、青色光照射を利用することにより、翌春の第一次伝染源を断ち切る事が可能であると考えられる。

以上に述べてきたように、環境生理的実験で得られた結果を基にして、*B. cinerea* の生活史を推定してきたが、分生胞子および耐久体といわれている菌核が自然条件下でどのような状態で生存、越冬するのか、また、自然界

における生活史の現状については、今後検討すべき課題の一つである。さらに、*B. cinerea* についての他の研究報告では、系統によって胞子形成能および菌核形成能に差異があるともいわれているが(野中ら⁽¹⁵⁾ 1967, 樋浦⁽¹⁷⁾ 1967)、今後多くの宿主の異なる菌株を用いて、それらの無性生殖器官の形成能について比較検討し、分生胞子および菌核の存在意義、形成機構についても明らかにする必要があるものと考えられる。

摘 要

灰色かび病菌 *Botrytis cinerea* は、野菜類および花卉類を侵かす多犯性の植物病原菌で、無性生殖器官として、分生胞子のほか、菌核をも形成し、主として、分生胞子の分散によって病原体が拡散される。分生胞子および菌核の形成機構は種々多様の環境因子によって影響され、生活様式も複雑で、本菌による病害の防除は極めて困難なのが現状である。しかし、そのような病害を防除する最も根本的かつ経済的な方法の一つとして、病原菌の生理的分化および病原菌の生活史を明らかにすることによって、自然界における病原菌の生活環を解明し、その伝染鎖を効果的に断ち切るなど、人工的に病害を防除することの可能性を追求することはきわめて重要であることはいうまでもない。

本研究はこれらの病理学上の問題とともに菌類の形態形成における光の役割を明らかにするために行われたものである。

1 分生胞子の形成過程における

光の役割

Botrytis cinerea の分生胞子形成過程には少なくとも二つの発育相、すなわち、近紫外光照射による分生子柄形成誘導のための発育相と、分生子柄形成誘導後、暗黒下で分生胞子形成が進行する発育相が存在する。この分生子柄形成誘導後の暗期反応は青色光照射によって阻害され、形成誘導された分生子柄は尖釘状の細長い菌糸、すなわち、気中菌糸へ脱分化する。

この青色光照射による胞子形成阻害効果は青色光照射直後に与えられた近紫外光照射によって打ち消され、再び胞子が形成されるようになる。しかも、この二つの光の効果は相互に可逆的であり、最終的な生理的效果は最後に与えられた光の質によって決定される。

このように、本菌の分生胞子形成過程には青色光と近紫外光による光可逆的反応系、す

なわら、マイクラローム系が関与し、分化の方向性を決定する上で重要な役割を果たす。さらに、近紫外光照射により分生子柄形成を誘導した後、各々の発育段階にある分生子柄に青色光（60分）および近紫外光（30分）を照射し、青色光と近紫外光照射が、いかなる分生子柄の発育段階において作用するのかを形態的に顕微鏡下で追跡した。その結果、図11と13に要約されているように、本菌の分生子柄の発育過程は形態的に明らかに異なる6つの発育段階に区別され、stage 2から5の発育段階にある分生子柄は、青色光照射を受けるとことによって尖針状の細長い気中菌糸へと脱分化し、胞子形成能を失う。しかしながら、青色光照射直後に近紫外光を照射すると形成誘導された分生子柄は脱分化することなく、正常な胞子形成を行なうようになる。しかも、この二つの光による可逆的反応系は形態的研究においても、その反復性が確認され、胞子形成過程における青色光と近紫外光による光

可逆的反応系は、分生子柄のある特定の発育段階で、反相する方向へ機能することが明らかとなった。

エ 菌核の形成過程における光の役割

本菌の菌核については、これまで terminal type だけと形成するものとされていたが、本研究では、環境要因を制御することによって terminal type はもちろん、これまで形成されないと言われてきた lateral type の菌核をも自由に形成させることを見い出した。

(i) terminal type の菌核形成における光の役割

本発育型の菌核原基形成は、栄養菌糸の先端をカバーガラスでマウンティングすることによる物理的接触刺激によって誘導される。この菌核形成過程は stage 1 ~ 4 まで、形態的

に4つの発育段階に分けることができ、stage 1と2の発育段階にある菌核原基は、カバーガラスを除去すると尖針状の細長い菌糸を伸長して脱分化し、その後の菌核形成過程の進行は阻害される。しかし、stage 3の発育段階にある菌核原基は、カバーガラスを除去してもやはり脱分化することなく、成熟した菌核へと発育は進行する。したがって、菌核原基の形成過程には3つの発育相、すなわち、カバーガラスをマウンティングすることによる接触刺激によって、菌核原基の形成が誘導される発育相(stage 1と2)と、カバーガラスを除去しても脱分化せずに成熟した菌核形成にいたる菌核原基の成熟過程(stage 3)とが存在する。カバーガラスを除去しても脱分化しなくなる発育段階(stage 3)にある菌核原基は、青色光照射を受けることによって、尖針状の細長い菌糸を伸長して脱分化し、その後の菌核形成過程は阻害される(図23)。しかし、この青色光照射による菌核形成阻害効果

は、青色光照射直後に与えられた近紫外光照射によって打ち消され、再び正常な菌核形成過程の進行がみとめられるようになる(図24)。このように、terminal typeの菌核形成過程には、青色光と近紫外光による光可逆的反応系、すなわち、マイコクローム系が関与し、ある一定の発育段階にある菌核原基において機能することが明らかにされた。

(ii) lateral type の菌核形成過程における温度および光の役割

本発育型の菌核原基形成は、20℃の暗黒下で3日間培養した菌叢を30℃で24時間高温培養し、再び20℃の暗黒下で培養すると高温培養開始時の菌叢先端近傍に誘導される。

本発育型の菌核形成過程はstage 1 から5までの発育段階に分けることができ、stage 2 と3の発育段階にある菌核原基が青色光照射を受けると、フア状菌糸からの棍棒状菌糸の分

枝および棍棒状菌糸の第一次分枝は阻害され、尖針状の細長い菌糸を伸長して脱分化し、その後の菌核形成過程は阻害される(図34)。

このように、本発育型の菌核形成も stage 2 からの発育段階にある菌核原基は、青色光照射を受けることによって脱分化し、その後の菌核形成過程は阻害される。この青色光照射による菌核形成阻害効果は、terminal type の場合とは異なっており、青色光照射直後に近紫外光を照射しても回復しない。

また、stage 1 と 2 の発育段階にある菌核原基は近紫外光照射を受けると、菌核原基の main hypha およびツア状菌糸から分生子柄の形成が誘導され、その結果、その後の菌核形成は阻害されるようになる(図35)。

このように、lateral type 菌核形成においても、分生胞子形成および terminal type の菌核形成の場合と同じように、菌核形成過程のある特定の発育段階にある菌核原基は、青色光照射を受けることによって尖針状の細長い気

中菌糸を伸長して脱分化し、菌核形成は阻害される。また、この青色光照射による菌核形成阻害効果は、その直後に近紫外光照射を与えても回復せず、形成誘導された菌核原基上に分生子柄の形成が優位に進行する結果、その後の菌核形成過程は阻害されるようになることが明らかにされた。

以上述べてきたような環境生理学的実験結果(図36)から、自然界における*B. cinerea*の生活環について、次のように考えられる。

風などによって運ばれ、植物体上に落下した分生胞子は宿主で発芽した後、付着器を形成し、植物組織に侵入し、定着する。このようにして感染が成立した病原体は組織内部、あるいは組織表面で栄養生長を行ない、一定の生育を確保した栄養菌糸は、昼間、太陽光に含まれる近紫外域光を受けることによって分生子柄形成が誘導される。夜になると、昼間に形成誘導された分生子柄は、その後の発

育過程を経て分生胞子を着生するようになる。
本菌の分生胞子形成は比較的高温条件下において良好であるから、圃場において、*B. cinerea*の胞子形成は夏期において旺盛であり、この時期に病原体が最も多く拡散されるものと考えられる。

一方、*B. cinerea*の菌核形成は、terminalおよびlateralの両発育型とも、高温より比較的低温条件下において活発に起る。このような温度条件は、夏よりむしろ秋から冬にかけて確保される。しかも、両発育型の菌核形成は、ある一定の発育段階にある菌核原基が青色光照射を受けるとによって抑制される。また、lateral typeの菌核形成においては、菌核形成過程の初期発育段階で近紫外光照射を受けると、その後、分生胞子が形成される結果、菌核形成は阻害されることになる。このように太陽光は分生胞子形成の誘導には有効的に作用するが菌核形成においては抑制的に作用するものと考えられる。菌核は比較的長時間の

低温暗期の下でよく形成されることから実際の圃場においても、菌核形成は秋から冬にかけて、光から遮断された植物組織の中、あるいは土壌中のように限られた環境下で行なわれるものと考えられる。このような環境下で形成された菌核は、土壌中で生存、越冬し、翌春、再び分生子柄形成が誘導され、分生胞子を形成する生活環を営み、このようにして翌年の第一次伝染源が成立されるものと考えられる。

これまで述べてきた環境生理的実験で得られた結果を基にして、*B. cinerea* の生活史を推定してきたが、分生胞子および耐久体といわれている菌核が自然条件下でどのような状態で生存、越冬するのか、また自然界における生活史の实体については今後検討すべき大きな課題である。

謝 辞

本研究の遂行にあたって終始変らぬ御助言、御指導を頂き、また本論文を草するにあたって御校閲の労をとられた東北大学農学研究所教授、尾田義治博士に対して深甚なる謝意を表する。また本研究開始以来絶大なる御協力と御援助を頂いた東北大学農学研究所助教授、西崎友一郎博士、同助手、熊谷忠博士および同植物環境生理学研究室の諸氏に対して深甚なる謝意を表する。

さらに電子顕微鏡について種々御教示を頂いた東北大学農学研究所助手南本敏雄博士に心から謝意を表する。

引 用 文 献

- (1) Aragaki, M. Quality of radiation inhibitory to sporulation of *Alternaria tomato*. *Phytopath.*, 49: 1227 1962.
- (2) Bailey, A.A. Effects of ultraviolet radiation upon representative species of *Fusarium*. *Bot. Gaz.*, 94: 225-271 1932.
- (3) Barnett, H.L. & V.G. Lilly Influence of nutritional and environmental factors upon asexual reproduction of *Choanephora cucurbitarum*. *Phytopath.*, 40: 80-89 1950.
- (4) Bedi, K.S. Studies on *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary
I. Some chemical factors affecting the formation of sclerotia. *Prec. Nat. Acad. Sci., India*(Section B) 26: 112-130 1956.
- (5) ——— Studies on *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary
II. Some more chemical factors affecting the formation of sclerotia. *Prec. Nat. Acad. Sci., India*(Section B) 26: 317-330 1956.
- (6) Blakeman, J.P. & D. Hornby The persistence of *Colletotrichum coccodes* and *Mycosphaerella ligulicola* in soil, with special reference to sclerotia and conidia. *Trans. Br. mycol. Soc.* 49: 227-240 1966.
- (7) Brandt, W.H. & C.H. Wang Catabolism of C¹⁴-labelled glucose, gluconate, and acetate in *Verticillium albo-atrum*. *Amer. J. Bot.*, 47: 50-53 1960.
- (8) Brandt, W.H. Morphogenesis in *Verticillium*: effects of light and ultraviolet radiation on microsclerotia and melanin *Can. J. Bot.*, 42: 1017 1964.

- (9) Brinkerhoff, L.A. The influence of temperature, aeration and soil microflora on microscleritial development of *Verticillium albo-atrum* in abscised cotton leaves. *Phytopath.*, 59: 805-808 1969.
- (10) Carlile, M.J. A study of the factors influencing non-genetic variation in a strain of *Fusarium oxysporum*. *J. Gen. Microbiol.*, 14: 643-654 1956.
- (11) Carlile, M.J. The photobiology of fungi. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 16: 175-202 1965.
- (12) Chet, I. & Y. Henis The control mechanism of sclerotial formation in *Sclerotium rolfsii* Sacc. *J. Gen. Microbiol.*, 17: 429-434 1968.
- (13) Chet, I. & Y. Henis Sclerotial morphogenesis in fungi. *Ann. Rev. Phytopath.*, 13: 169-192 1975.
- (14) Christenberry, G.A. A study of the effect of light of various periods and wave length on the growth and asexual reproduction of *Choanephora cucurbitarum* (Berk and Rav.) Thaxter. *Elisha Mitchell Sci. Soc.*, 54: 297-310 1938.
- (15) Coley-Smith, J.R. Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. IV. Germination of sclerotia. *Ann. appl. Biol.*, 48: 8-18 1960.
- (16) Coley-Smith, J.R. & R.C. Cooke Survival and germination of fungal sclerotia. *Ann. Rev. Phytopath.*, 9: 65-92 1971.
- (17) Coons, G.H. Factors involved in the growth and the pycnidia formation of *Plenodomus fuscomaculans*. *J. Agric. Res.*, 5: 713-766 1916.

- (18) Diener, U.L. Sporulation in pure culture by *Stemphylium solani*.
Phytopath., 45: 141-145 1955.
- (19) Fulkerson, J.F. The relation of light to the production of pycnidia
by *Physalospora obtusa*. Phytopath., 45: 22-25 1955.
- (20) Hall, M.P. An analysis of the factors controlling the growth form
of certain fungi with special reference to *Sclerotinia*
(*Monilia*) *fructigena*. Ann. Bot., 47: 543-578 1933.
- (21) Hashiba, T. & R.C. Staples Nucleic acid metabolism in developing
sclerotia of the rice sheath blight fungus (*Rhizoctonia*
solani Kuhn). J. Gen. Microbiol., 96: 239-245 1976.
- (22) Heale, J.B. & I. Isaac Environmental factors in the production
of dark resting structures in *Verticillium albo-atrum*, *V.dahliae*
and *V.triocorpus*. Trans. Br. mycol. Soc., 48: 39-50 1965.
- (23) Heath, L.A. & H.O.W. Eggines Effect of light, temperature and
nutrients on the production of conidia and sclerotia by forms
of *Aspergillus japonicus*. Experientia 21: 385 1965.
- (24) Hemmi, T. & S. Endo Studies on sclerotium diseases of the rice
plant. III. Some experiments on the sclerotial formation
and the pathogenicity of certain fungi causing sclerotium
disease of the rice plant. Auf. Dem. Geb. Pflanzenkr.
Kyoto I: 111-125 1931.
- (25) Henis, Y., Y. Okon & I. Chet The relationship between early hyphal
branching and formation of sclerotia in *Sclerotium rolfsii*.
J. Gen. Microbiol., 79: 147-150 1973.

- (26) Herndon, R.W. "The influence of ultraviolet and visible light on the sporulation of the fungus *Stemphylium solani* Weber." Thesis, Univ. of Vermont, Burlington, Vermont. From "Leach, C.M. A practical guide to the effect of visible and ultraviolet light on fungi. Method in Microbiol., 4: 609-664 1971.
- (27) 樋浦 誠 植物病原菌類解説 養賢堂 東京 1967
- (28) Honda, Y., M. Sakamoto & Y. Oda Blue and near ultraviolet reversible photoreaction on the sporulation of *Helminthosporium oryzae*. Plant and Cell Physiol., 9: 603-607 1968.
- (29) 本田雄一 *Helminthosporium oryzae* の胞子形成に及ぼす光の影響に関する研究. 学位論文 (東北大学) 1969
- (30) Humpherson-Jones, F.M. & R.C. Cooke Morphogenesis in sclerotium-forming fungi. I. Effects of light on *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium delphinii* and *S. rolfsii*. New Phytol., 78: 171-180 1977.
- (31) Isaac, I. & G.H. Abraham Saltation and zonation in *Verticillium lateritium*. Can. J. Bot., 37: 801-814 1959.
- (32) Kaiser, W.J. Influences of light on the production of microsclerotia by *Verticillium albo-atrum*. Phytopath., 52: 362 1962.
- (33) ————— Effects of light on growth and sporulation of the *Verticillium* wilt fungus. Phytopath., 54: 765-776 1964.
- (34) Kumagai, T. & Y. Oda Blue and near ultraviolet reversible photoreaction in conidial development of the fungus, *Alternaria tomato*. Development, Growth and Differentiation II: 130-142 1969.

- (35) Kumagai, T. & Y. Oda Blue and near ultraviolet reversible photo-reaction with an intracellular particulate fraction of the fungus, *Alternaria tomato*. Plant and Cell Physiol., 14: 1107-1112 1973.
- (36) Kumagai, T., N. Yoshioka & Y. Oda Further studies on the blue and near ultraviolet reversible photoreaction with an intracellular particulate fraction of the fungus, *Alternaria tomato*. Biochemica et biophysica acta 421: 133-140 1976.
- (37) Leach, C.M. Sporulation of diverse species of fungi under near ultraviolet radiation. Can. J. Bot., 40: 151-161 1962.
- (38) ——— The qualitative and quantitative relationship of monochromatic radiation to sexual and asxual reproduction of *Pleospora herbarum*. Mycologia 55: 151-163 1963.
- (39) ——— The relationship of visible and ultraviolet light to sporulation of *Alternaria chrysanthemi*. Trans. Br. mycol. Soc., 47: 153-158 1964.
- (40) Leach, C.M. & E.J. Trione An action spectrum for light-induced sporulation in the fungus, *Ascochyta pisi*. Plant Physiol., 40: 808-812 1965.
- (41) Leach, C.M. Ultraviolet-absorbing substances associated with light-induced sporulation in fungi. Can. J. Bot., 43: 185-200 1965.
- (42) ——— Detection of ultraviolet absorbing substances in living mycelium of fungi. Mycologia 57: 291-300 1965.

- (43) Leach, C.M. & E.J. Trione Action spectra for light-induced sporulation of the fungi *Pleospora herbarum* and *Alternaria dauci*. Photochem. Photobiol., 5: 621-630 1966.
- (44) Leach, C.M. Interaction of near ultraviolet light and temperature on sporulation of the fungi *Alternaria*, *Cercospora*, *Fusarium*, *Helminthosporium* and *Stemphylium*. Can. J. Bot., 45: 1999-2015 1967.
- (45) ——— An action spectrum for light inhibition of the "terminal phase" of photosporogenesis in the fungus *Stemphylium botryosum*. Mycologia 60: 532-546 1968.
- (46) ——— Regulation of perithecial development and maturation in *Pleospora herbarum* by light and temperature. Trans. Br. mycol. Soc., 57: 295-315 1971.
- (47) Le Tourneau, D. Effects of phenylthiourea on growth and sclerotial formation of *Sclerotium rolfsii* and *Whetzelinia sclerotiorum*. Can. J. Microbiol., 22: 379-383 1976.
- (48) Lopez-Real, J.M. Formation of pseudosclerotia('zone line') in wood decayed by *Armellaria mellea* and *Stereum hirsutum* I. Morphological aspects. Trans. Br. mycol. Soc., 64: 465-471 1975.
- (49) Lukens, R.J. Photoinhibition of sporulation in *Alternaria solani*. Ann. J. Bot., 50: 720-724 1963.
- (50) Marsh, P.B., E.E. Yaylor & M. Bassler A guide to literature on certain effects of light on fungi: Reproduction, morphology pigmentation and phototropic phenomena. Plant Dis. Repr. Suppl., 26: 251-312 1959.

- (51) Madelin, M.F. The influence of light and temperature on fruiting of *Coprinus lagopus* Fr. in pure culture. Ann. Bot. N.S., 20: 467-480 1956.
- (52) McCallan, S.E.A. & S.Y. Chan Inducing sporulation of *Alternaria solani* in culture. Contr. Boyc. Thomp. Inst., 13: 323-335 1944.
- (53) McClellan, W.D., H.A. Borthwick, I. Bjornsson & B.H. Marshall, Jr. Some responses of fungi to light. Phytopath., 45: 465 1955.
- (54) Melpuish, J.H. & G.A. Bean Effect of dimethyl sulphoxide on the sclerotia of *Sclerotium rolfsii*. Can. J. Microbiol., 17: 429-434 1971.
- (55) 野中福次, 森田 昭 *Botrytis cinerea* Person に関する研究
第一報 培養的性質について, 佐賀大農報 24: 93-107, 1967
- (56) Okon, Y., L. Chet & Y. Henis The effect of glucose and lactose on β -D-galactosidase activity and formation of sclerotia in *Sclerotium rolfsii*. Can. J. Microbiol., 21: 1123-1126 1975.
- (57) Page, O.T. The influence of light and other environmental factors on mycelial growth and sclerotial production by *Botrytis squamosa*. Can. J. Bot., 34: 881-890 1956.
- (58) Page, R.M. Studies on the development of asexual reproduction structure in *Pilobolus*. Mycologia 48: 206-224 1956.
- (59) Paul, W.R.C. A comparative morphological and physiological study of a number of strains of *Botrytis cinerea* with special reference to their virulence. Trans. Br. mycol. Soc., 14: 118-134 1929.

- (60) Ramsey, G.B. & A.A. Bailey Effects of ultraviolet radiation on sporulation in *Macrosporium* and *Fusarium*. Bot. Gaz., 89: 113-136 1930.
- (61) Robinson, W. The condition of growth and development of *Pyronema confluens*. Ann. Bot., 40: 245-272 1926.
- (62) Rudolph, E.D. The effect of some physiological and environmental factors on sclerotial *Aspergilli*. Am. J. Bot., 49: 71-78 1962.
- (63) Stevens, F.L. Effects of ultraviolet radiation on various fungi. Bot. Gaz., 86: 210-225 1928.
- (64) ————— The ascigerous stage of *Colletotrichum lagenarium* induced by ultra-violet irradiation. Mycologia 23: 134-139 1931.
- (65) Stoll, K. Zentble. Bakt. ParasitKde 98: 296-298 1936.; From "Leach, C.M. A practical guide to the effects of visible and ultraviolet light on fungi. Method in Microbiol., 4: 609-664 1971."
- (66) Suzuki, Y., T. Kumagai & Y. Oda Locus of blue and near ultra-violet reversible photoreaction in the stages of conidial development in *Botrytis cinerea*. J. Gen. Microbiol., 98: 199-204 1977.
- (67) Tan, K.K. & H.A.S. Epton Further studies on light and sporulation in *Botrytis cinerea*. Trans. Br. mycol. Soc., 62: 105-112 1974.
- (68) Townsend, B.B. Nutritional factors influencing the production of sclerotia by certain fungi. Ann. Bot. N.S., 21: 153-166 1957.

- (69) Townsend, B.B. & H.J. Willetts The development of sclerotia of certain fungi. Trans. Br. mycol. Soc., 37: 213-221 1954.
- (70) Trevethick, J. & R.C. Cooke Effects of some metabolic inhibitors and sulphur-containing amino acids on sclerotium formation in *Sclerotium Rolfsii*, *S. delphinii* and *Sclerotinia sclerotiorum*. Trans. Br. mycol. Soc., 57: 340-342 1971.
- (71) ————— & ————— Non-nutritional factors influencing sclerotium formation in some *Sclerotinia* and *Sclerotium* Species. Trans. Br. mycol Soc., 60: 559-566 1973.
- (72) Trinci, A.P.J. & G.H. Banbury A study of the growth of the tall conidiophores of *Aspergillus giganteus*. Trans. Br. mycol. Soc., 50: 525-538 1967.
- (73) Wang, S.C. & D. Le Tourneau Carbon sources, growth, sclerotium formation and carbohydrate composition of *Sclerotinia sclerotiorum*. Arch. Mikrobiol., 80: 219-233 1971.
- (74) Wheeler, B.E.J. & N. Sharan The production of sclerotia by *Sclerotium rolfsii*. I. Effects of varying the supply of nutrients in an agar medium. Trans. Br. mycol. Soc., 48: 291-301 1965.
- (75) Wheeler, B.E.J. & J.M. Waller The production of sclerotia by *Sclerotium rolfsii*. II. The relationship between mycelial growth and initiation of sclerotia. Trans. Br. mycol. Soc., 48: 303-314 1965.

- (76) Willetts, H.J. The morphogenesis and possible evolutionary origins of fungal sclerotia. Biol. Rev., 47: 515-536 1972.
- (77) Yadav, B.S. Effect of ultraviolet and visible radiation on the sporulation of species of *Helminthosporium*. Diss. Abstr., 24: I786-I787 1963.
- (78) 小村 三郎 不完全菌 *Helminthosporium oryzae* の胞子形成とくに光誘導型および暗誘導型に關与する光制御系について. 学位論文(東北大学) 1977